

**UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA  
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y FORESTALES**



**EVALUACION DEL EFECTO DE DIFERENTES TIPOS Y DOSIS DE  
AUXINAS SOBRE EL ENRAIZAMIENTO EX VITRO DE  
MICROTALLOS DE ARANDANO (*Vaccinium corymbosum* L.)  
VARIEDADES BRIGITTA Y LEGACY.**

Tesis presentada a la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales de la Universidad de La Frontera como parte de los requisitos para optar al título de Ingeniero Agrónomo.

PEDRO ANTONIO BUSTOS CURIQUEO

TEMUCO – CHILE

2010

**UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA  
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y FORESTALES**



**EVALUACION DEL EFECTO DE DIFERENTES TIPOS Y DOSIS DE  
AUXINAS SOBRE EL ENRAIZAMIENTO EX VITRO DE  
MICROTALLOS DE ARANDANO (*Vaccinium corymbosum* L.)  
VARIEDADES BRIGITTA Y LEGACY.**

Tesis presentada a la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales de la Universidad de La Frontera como parte de los requisitos para optar al título de Ingeniero Agrónomo.

PEDRO ANTONIO BUSTOS CURIQUEO

PAMELA IBARRA PALMA

TEMUCO – CHILE

2010

**EVALUACION DEL EFECTO DE DIFERENTES TIPOS Y DOSIS DE AUXINAS SOBRE EL ENRAIZAMIENTO EX VITRO DE MICROTALLOS DE ARANDANO (*Vaccinium corymbosum* L.) VARIEDADES BRIGITTA Y LEGACY.**

PROFESOR GUIA

: PAMELA IBARRA PALMA  
PROFESOR DE BIOLOGÍA Y CIENCIAS  
Mg. Cs. FISILOGÍA VEGETAL

PROFESOR CONSEJERO

: EMMA BENSCH TAPIA  
INGENIERO AGRÓNOMO  
Mg. Cs. FISILOGÍA VEGETAL

CALIFICACION PROMEDIO TESIS:

## **AGRADECIMIENTOS**

**Dedicada a toda mi familia, profesores y amigos, especialmente a quienes estuvieron conmigo en los tiempos difíciles...a todos los que confiaron en mí.**

## ÍNDICE DE MATERIA

| Capítulos |   | Páginas |
|-----------|---|---------|
| 1.        | INTRODUCCIÓN                                  | 1       |
| 2.        | REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA                        | 4       |
| 2.1       | Características relevantes de la especie      | 4       |
| 2.2       | Métodos de propagación de la especie.         | 6       |
| 2.2.1     | Sexual  | 6       |
| 2.2.2     | Asexual                                       | 6       |
| 2.3       | Antecedentes generales sobre micropropagación | 6       |
| 2.3.1     | Factores internos                             | 7       |
| 2.3.2     | Factores externos                             | 8       |
| 2.4       | Etapas de la micropropagación                 | 8       |
| 2.4.1     | Etapas 0                                      | 8       |
| 2.4.2     | Establecimiento                               | 8       |
| 2.4.3     | Multiplificación                              | 9       |
| 2.4.4     | Elongación                                    | 9       |
| 2.4.5     | Enraizamiento                                 | 9       |
| 2.4.6     | Enraizamiento <i>ex vitro</i> y aclimatación  | 16      |
| 3.        | MATERIALES Y MÉTODOS                          | 20      |
| 3.1       | Lugar de trabajo                              | 20      |
| 3.2       | Materiales                                    | 20      |
| 3.2.1     | Material Vegetal                              | 20      |
| 3.2.2     | Materiales de Laboratorio                     | 20      |
| 3.2.3     | Materiales de invernadero                     | 21      |
| 3.2.4     | Auxinas                                       | 21      |
| 3.3       | Metodología                                   | 21      |

|       |   |    |
|-------|---|----|
| 3.3.1 | Origen del material vegetal                     | 21 |
| 3.3.2 | Preparación auxinas                             | 21 |
| 3.3.3 | Enraizamiento de microtallos                    | 21 |
| 3.3.4 | Diseño experimental                             | 22 |
| 3.3.5 | Evaluación de resultados y análisis estadístico | 22 |
| 4.    | PRESENTACIÓN DE LOS RESULTADOS Y DISCUSIÓN      | 23 |
| 4.1   | Respuesta Rizogénica                            | 23 |
| 4.1.1 | Porcentaje de Enraizamiento                     | 23 |
| 4.1.2 | Número de Raíces                                | 25 |
| 4.1.3 | Longitud de Raíces                              | 29 |
| 5.    | CONCLUSIONES                                    | 33 |
| 6.    | RESUMEN   | 34 |
| 7.    | ABSTRACT  | 35 |
| 8.    | LITERATURA CITADA                               | 36 |
| 9.    | ANEXOS  | 40 |

## 1. INTRODUCCIÓN

La micropropagación es la técnica de propagación vegetativa que mejores resultados ha mostrado en diferentes especies frutales, permitiendo la rápida obtención de plántulas libres de virus y enfermedades, y conservando a la vez las características genéticas previamente seleccionadas. Las plantas obtenidas a través de esta técnica, han mostrado un mejor comportamiento en terreno que las especies propagadas por estacas, originando huertos con crecimiento y producción homogéneos.

Sin embargo, presenta dificultades que elevan los costos de las plantas obtenidas, entre las que destacan la baja sobrevivencia en la etapa de aclimatación, deficiencia de las raíces generadas en agar, necesidad de instalaciones con elevada inversión y personal especializado para el trabajo en laboratorio.

La etapa de enraizamiento del proceso de micropropagación puede ser realizada en condiciones *ex vitro*, de manera simultánea a la aclimatación. Esto se traduce en ventajas como una rápida adaptación *in vivo* y la obtención de plantas con raíces funcionales que permiten alcanzar rápidamente la condición de autotrofia, garantizando así una mayor facilidad de absorción de agua y nutrientes, junto a importantes reducciones en los costos.

La capacidad rizogénica de las especies del género *Vaccinium* puede ser estimulada mediante la aplicación de auxinas, pero tanto en condiciones *in vitro* como *ex vitro*, las variedades han mostrado un grado de respuesta diferente y muchas veces insatisfactorio. Esto hace necesario encontrar los tipos de tratamientos que aseguren los mejores resultados para las distintas variedades que se buscan propagar.

Por ello, en el Módulo de micropropagación de plantas frutales arbustivas del Campo Experimental Maquehue de La Universidad de La Frontera, se evaluó el efecto de diferentes tipos y dosis de auxina sobre la capacidad de enraizamiento de *Vaccinium corymbosum* L. variedades 'Brigitta' y 'Legacy' en condiciones *ex vitro*. Para esto se plantearon la siguiente hipótesis y objetivos:

### **HIPÓTESIS:**

El tipo y concentración de auxina afectan diferencialmente la capacidad rizogénica de los microtallos de arándano alto variedades Brigitta y Legacy.

### **OBJETIVOS:**

#### **General:**

- Evaluar el efecto de las auxinas ANA y AIB sobre el enraizamiento *ex vitro* de microtallos de arándano alto (*Vaccinium corymbosum* L.) de las variedades Brigitta y Legacy.

**Específicos:**

- Determinar el efecto de las auxinas (ANA) y (AIB) sobre la capacidad rizogénica de las variedades Brigitta y Legacy.
  
- Comparar el efecto de diferentes concentraciones (0, 200 y 300 ppm) de ANA y AIB sobre el número y longitud de las raíces generadas en las variedades Brigitta y Legacy.
  
- Comparar la capacidad rizogénica de ambas variedades.

## 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Características relevantes de la especie.

Perteneciente a la familia *Ericaceae*, el género *Vaccinium* está compuesto por arbustos perennes, leñosos, en su mayoría de hoja caduca, que dan sus frutos en racimos (Sudzuki, 1988).

En la actualidad, cinco grandes grupos de este género se cultivan comercialmente (Debnath, 2006): (1) lowbush (*V. angustifolium* Ait., *V. myrtilloides* Michx., *V. boreale* Hall y Aald.), (2) highbush (*V. corymbosum* L.); (3) half-high, que son híbridos derivados de retrocruzamientos o hibridaciones highbush-lowbush, (4) southern highbush, que se desarrolló a partir de la hibridación de *V. corymbosum* con una o más especies (principalmente *V. Darrowi* Camp y *V. ashei* Reade); y (5) rabbiteye (*V. ashei*).

De estos grupos, el tipo highbush compuesto por *V. corymbosum*, también denominado arándano alto, es la especie más importante debido a la mejor calidad organoléptica de su fruto (Buzeta, 1997), que corresponde a una baya casi esférica que varía en tamaño desde 0,7 a 1,5 cm de diámetro. Su color va desde azul claro hasta un negro intenso, dependiendo de la variedad; posee secreciones cerosas que le dan una terminación atractiva y puede poseer hasta 100 semillas pequeñas ubicadas al interior de su endocarpio (Muñoz, 1988).

Sus frutos son comercial y biológicamente importantes debido a su alto contenido de vitaminas, sustancias orgánicas bioactivas con efectos antibacterianos y anticancerígenos, pigmentos antocianos y por ser una excelente fuente de antioxidantes (Georgieva y Kondakova, 2008).

Una característica del fruto, es su cicatriz, que comercialmente se busca que sea pequeña y seca, además de un fruto firme, esto relacionado con el grosor de la epidermis (Muñoz, 1988; Buzeta, 1997).

Respecto al sistema radical del arándano, Buzeta (1997) señala está compuesto de finas raicillas, es superficial, fibroso y de poca extensión. La raíz está desprovista de pelos radicales, de modo que son las raíces más jóvenes las que efectúan principalmente la absorción.

**2.1.1 Variedades.** Entre las variedades de arándano alto, se distinguen aquellas de fructificación temprana, media y tardía en función de su requerimiento de horas frío. Las variedades de maduración temprana se cosechan entre diciembre y enero, las medias de enero a febrero y las tardías de febrero a marzo (Ellena, 2005).

**2.1.1.a Variedad Brigitta.** Correspondiendo a una variedad de estación media, morfológicamente es de muy buen vigor y crecimiento erecto. Se caracteriza por tener un fruto grande, azul medio, dulce, de buena cicatriz, y con una escasa resistencia al frío. Su maduración se efectúa a mediados de Febrero. Esta variedad ha presentado una buena adaptación y rendimientos a los suelos del sur de Chile.

**2.1.1.b Variedad Legacy.** Posee una gran posibilidad de distribución por ser de estación media. Sus frutos se caracterizan por presentar tonalidades azul claro, ser grandes, de muy buen sabor y textura, con una pequeña cicatriz. Su maduración se realiza a mediados o fines de Febrero. Es una variedad de altos potenciales de rendimiento y abundante desarrollo vegetativo.

## **2.2 Métodos de propagación de la especie.**

La especie presenta dos medios de propagación, sexual y asexual. La primera corresponde a la forma de reproducción natural que involucra generación de semillas viables, y la segunda es parte del proceso de propagación artificial que busca acelerar la etapa de fructificación de la especie conservando a la vez ciertas características elegidas.

**2.2.1 Sexual.** Siendo genéticamente heterocigotas, las especies del género *Vaccinium* no reproducen individuos similares a las plantas madres desde semillas (Debnath, 2006). Al respecto, Pierik (1990) señala que la multiplicación sexual suele ser una desventaja cuando la descendencia obtenida es heterogénea, al ser fuertemente heterocigota.

**2.2.2 Asexual.** La propagación vegetativa, basada en la formación de raíces adventicias en cortes de tallos, es la base de la práctica común de reproducción asexual de muchas especies en las que es esencial mantener la pureza genética (Salisbury y Ross, 1992).

Tradicionalmente, el arándano ha sido multiplicado a través de propagación vegetativa, para asegurar la conservación de las características genéticas, y permitiendo además alcanzar rápidamente las condiciones frutales (Debnath, 2006). Este método de propagación integra tanto la propagación por estacas, como la micropropagación a escala comercial.

## **2.3 Antecedentes generales sobre micropropagación.**

La micropropagación es una técnica que permite la obtención masiva y rápida de plantas a partir de porciones muy pequeñas de ellas, de tejidos o células cultivadas asépticamente. Algunos de los tejidos u órganos utilizados en micropropagación (explantos) son tallos, raíces, embriones, callos y suspensiones de células (Hartmann y Kester, 1998).

Estas características han hecho de la micropropagación una técnica de explotación comercial para diferentes especies frutales a nivel internacional que también ha sido aplicada con éxito sobre diferentes especies del género *Vaccinium* (Debnath, 2006).

Existen algunos factores que pueden alterar la respuesta a la micropropagación. Entre ellos se encuentran factores internos, que están relacionados con las características del explante y factores externos relacionados con el medio ambiente.

### **2.3.1 Factores internos.**

**2.3.1.1 Edad del explante:** La edad de planta de la cual fue obtenido el explante, tiene un rol predominante en la capacidad regenerativa *in vitro*. Los explantes tomados de plantas jóvenes enraízan con más facilidad que los tomados de plantas adultas (Pierik, 1990; Marín, 1997).

Conforme una planta envejece, su capacidad regenerativa suele disminuir, por este motivo, se utiliza material procedente de plantas juveniles, en especial, en el caso de árboles y arbustos (Pierik, 1990; Salisbury y Ross, 1992).

**2.3.1.2 Tamaño del explante:** Este factor, referido a la cantidad de tejido que acompaña al meristemo ha sido extensamente investigado en distintas especies herbáceas y leñosas; donde juega un importante rol, al desempeñar un papel nutritivo y de protección a los tejidos meristemáticos (Marín, 1997).

En general, los explantes de mayor tamaño son más fáciles de enraizar, quizás debido a su mayor contenido de reservas alimenticias. Sin embargo, los explantes de menor tamaño

poseen un área lesionada mayor, lo que en ciertos casos promueve la regeneración de tejidos (Pierik, 1990).

**2.3.2 Factores externos:** El éxito del cultivo *in vitro* está influenciado por la composición química de los medios de cultivo utilizados. Estos son diversos y existe una especificidad genotípica entre especies respecto al medio de cultivo más apto para el crecimiento *in vitro* (Pierik, 1990).

Dentro de los factores se tienen:

- Condiciones físicas y de pH en el medio de cultivo.
- Condiciones minerales.
- Vitaminas y aminoácidos.
- Fuentes de carbono y energía.
- Reguladores de crecimiento
- Desinfección de los explantes.
- Condiciones del cultivo.

## **2.4 Etapas de la micropropagación.**

**2.4.1 Etapa 0:** En esta etapa se debe realizar un pre-tratamiento con el objetivo de detectar la liberación de compuestos fenológicos al medio y así poder adicionar antioxidantes, para prevenir de esta forma la oxidación de los explantes (Hartmann y Kester, 1998).

**2.4.2 Establecimiento:** El objetivo de esta etapa es establecer un explante estéril en un medio de cultivo. Los factores que afectan el éxito de esta etapa incluyen la selección del explante, la eliminación de contaminantes del mismo y las condiciones del cultivo. La selección del explante

es el más crítico ya que debe ser fisiológicamente competente para sobrevivir al cultivo inicial y provocar la respuesta apropiada (Hartmann y Kester, 1998).

**2.4.3 Multiplicación:** Los explantes cultivados en la etapa de establecimiento se cortan y los propágulos se vuelven a cultivar en un nuevo medio (Hartmann y Kester, 1998).

El éxito de la multiplicación se basa en que se produzcan brotes uniformes sin enraizar del tamaño adecuado, que se recuperen con rapidez después de su transferencia y que comiencen a crecer de inmediato (Hartmann y Kester, 1998).

La producción de plántulas se completa con la escisión de los brotes derivados de la etapa de multiplicación y posterior inducción de raíces adventicias *in vitro*, o bien, en condiciones *ex vitro* (González et al., 2000).

**2.4.4 Elongación.** Tras haber obtenido el número deseado de microtallos, estos se individualizan en frascos de un tamaño adecuado, con la aplicación de citoquininas para inducir su crecimiento y preparación para su posterior enraizamiento. Según Marín (1997), esta etapa consiste en lograr microtallos de un tamaño manejable (mayor a 2 cm) que permitan la sobrevivencia en condiciones de enraizamiento tanto *in vitro* como *ex vitro*.

**2.4.5 Enraizamiento.** La formación de raíces adventicias es muy importante como ejemplo de diferenciación, y además es muy útil para propagar plantas en las que es necesaria la multiplicación vegetativa para conservar las características seleccionadas (Puente, 1996).

**2.4.5.a Rizogénesis:** El proceso de rizogénesis está íntimamente relacionado con la división celular y las auxinas, que participan de forma directa sobre el crecimiento de las células (Barceló et al., 1988), favoreciendo el enraizamiento en esquejes de plantas herbáceas y leñosas.

**2.4.5.b Etapas de la rizogénesis:** El tallo presenta cambios anatómicos durante la iniciación de las raíces, los cuales pueden dividirse en cuatro etapas (Pierik, 1990):

- Desdiferenciación de células maduras específicas.
- Formación de meristemas iniciales de raíz en ciertas células cercanas a los haces vasculares, los cuales se vuelven meristemáticos por desdiferenciación.
- Desarrollo subsecuente de estos meristemas en primordios de raíces organizados.
- Desarrollo y emergencia de estos primordios radiculares hacia fuera a través del tejido del tallo, mas la formación de conexiones vasculares entre los primordios radicales de los tejidos conductores de la propia plántula.

Ríos (1996) y Jarvis, citado en Marín (1997), describen tres etapas basadas en el tratamiento y respuesta:

- a) Inducción de la rizogénesis, con acumulación de auxinas en la zona de formación de raíces, pero todavía sin división celular.
- b) Iniciación, respondiendo a la inducción con las primeras divisiones celulares y con la organización de nuevas células en los primordios de la raíz.
- c) Crecimiento de los primordios radicales, que precisa un descenso en el nivel de auxinas.

La etapa de inducción se inicia con la obtención de la microestaquilla y la posterior acumulación de auxinas en la parte basal por el transporte basípeto de las auxinas endógenas desde las hojas y yemas, y por la auxina exógena que se aplica con el medio de cultivo.

La etapa de iniciación, comienza 1 ó 2 días tras la inducción, cuando algunas células en la región del floema inmediatamente adyacentes al cambium o en los radios interfasciculares dilatan sus núcleos y reducen sus vacuolas, aumentando la

densidad del citoplasma al microscopio y la concentración de proteínas, tomando las características de las células meristemáticas que comienzan a dividirse.

Hacia los 4 a 7 días, las áreas morfogenéticas se organizan en meristemoides de raíz, que crecen atravesando el floema hacia el cortex. En este proceso, los gránulos de almidón desaparecen para proporcionar la energía necesaria.

En la etapa de crecimiento, durante la segunda y tercera semana, los primordios de raíz crecen y se alargan, desgarrando a su paso el cortex y la epidermis, emergiendo como raíces visibles. Al mismo tiempo se produce la conexión de los haces vasculares de la raíz y el tallo, posibilitando el transporte de nutrientes. En esta etapa, el número de raíces final está limitado, ya que las primeras raíces que se desarrollan inhiben el crecimiento de las demás, adaptándolo a las necesidades de la nueva planta.

El proceso de rizogénesis es muy complejo y está regulado por muchos factores, pero cuando falla, se detiene en fases muy concretas del proceso, en la fase inicial: la activación del cambium, para dar lugar a las primeras divisiones celulares (día 1), y la formación de nuevos meristemas a partir de la organización de nuevas células (remeristemización) y que darán lugar a los primordios de raíz (día 2). Sin embargo, cuando un primordio de raíz se forma, ya no se detiene y acaba formando una nueva raíz. (p 30-31)

**2.4.5.c Factores que determinan la rizogénesis:** Existen factores genéticos que juegan un papel importante en la rizogénesis, ya que se evidencian diferencias en la capacidad de enraizamiento entre especies de un mismo género (Margara, 1988; Paulouski, 2007).

Hartmann y Kester (1998) señalan que factores fisiológicos como la edad de la planta madre puede ser un factor determinante en la formación de raíces. Estacas de tallo o raíz tomadas en la etapa de desarrollo juvenil del crecimiento, forman frecuentemente nuevas raíces con mayor facilidad que aquellas tomadas de plantas que están en la fase adulta de su desarrollo.

Entre los factores ambientales, se encuentra la temperatura utilizada, que generalmente es cercana a 25°C.

El uso de oscuridad al comienzo del enraizamiento (4 – 7 días) suele ser favorable, no obstante, los microtallos deben estar iluminados durante el resto del enraizamiento (Debnath, 2006).

Schou *et al.*, (1997) de sus estudios sobre *Quercus robur 'Fastigiata'* señalan que la oscuridad continua es esencial para el enraizamiento y, que la formación de raíces se produce sólo cuando el azúcar y los reguladores de crecimiento están presentes en el medio de cultivo.

El factor más relevante, sin duda, es la presencia de reguladores de crecimiento en el medio de cultivo, tanto de forma endógena como exógena; la rizogénesis puede ser estimulada artificialmente mediante la utilización de hormonas y reguladores del crecimiento, al respecto, Marín (1997) señala que las auxinas son los únicos reguladores de crecimiento que estimulan el enraizamiento de forma consistente, manteniéndolo entre ciertos límites.

**2.4.5.d Utilización de auxinas en rizogénesis.** La mayor parte de las plantas necesitan auxinas para conseguir una regeneración radical eficaz. Pero, esta necesidad no es constante, ya que después de la iniciación de la raíz (para la que se necesita elevada concentración de auxina), el desarrollo de los primordios radicales requiere una baja concentración. Por esta razón, a veces la

iniciación radical se lleva a cabo *in vitro*, con una elevada concentración de auxina, y la iniciación de los primordios radicales se realiza *in vivo* (Pierik, 1990; Ríos, 1996).

Las auxinas más utilizadas para estimular la rizogénesis comprenden al ácido  $\alpha$ -naftalenacético (ANA) y ácido indol-3-butírico (AIB) ( Pierik, 1990; Hartmann y Kester, 1998), mientras que el ácido indol-3-acético (AIA) se utiliza en menor grado.

El AIA es la auxina presente en las plantas de forma natural (Salisbury y Ross, 1992; Weaver, 1996). Se le considera una auxina débil, y se utiliza frecuentemente para el enraizamiento de las plantas herbáceas. Esto, porque se descompone con la luz y los primordios radicales producidos pueden desarrollarse posteriormente con facilidad. Sin embargo, en las plantas leñosas que requieren concentraciones superiores de auxina el AIA generalmente no es eficaz, sobre todo cuando se utiliza en plantas difíciles de enraizar (Pierik, 1990). Weaver (1996), atribuye esta falta de eficacia a su elevada inestabilidad, señalando que se descompone rápidamente en soluciones no esterilizadas aun cuando permanece activo en soluciones estériles durante varios meses. A esto agrega que los rayos fuertes del sol pueden destruir en 15 minutos una solución de 10 ppm de AIA. Por esta razón se prefiere el uso de AIB y ANA.

La auxina AIB se define generalmente como una auxina sintética (Barceló *et al.*, 1988; Weaver, 1996). Sin embargo, Salisbury y Ross (1992), la definen como una auxina natural, tras ser descubierta su presencia en *Zea mays* y varias dicotiledóneas. En relación a su efectividad, se considera uno de los mejores estimulantes de la rizogénesis debido a una actividad auxínica débil y a que los sistemas destructores de auxinas la destruyen en forma relativamente lenta. Además, el AIB se desplaza muy poco y se retiene cerca del sitio de aplicación. Esto constituye una gran ventaja ya que los reguladores de crecimiento que se desplazan con facilidad pueden causar efectos indeseables en el crecimiento de las plantas (Weaver, 1996). Debido a su moderada actividad auxínica, permite ser utilizado en una gama de concentraciones

relativamente amplia (10 a 5000 ppm) sin causar efectos fitotóxicos ni inhibir el crecimiento caulinar.

Latsague *et al.*,(2009) al tratar estacas de *Eucryphia glutinosa*, con AIB durante 15 minutos en distintas concentraciones (0, 250, 500, 1.000 y 1.500 mg/L), observaron que los mejores resultados se produjeron en la concentración de 500 mg /L de AIB, con un 56,5% de enraizamiento.

Castrillón *et al.*,(2008), al estudiar el efecto de las auxinas sobre el enraizamiento de estacas de agraz (*Vaccinium meridionale* Swartz) en dos fases, a saber: la primera con el objetivo de evaluar el efecto de AIA, AIB y ANA en diferentes concentraciones (1, 10, 20 mg/L de ANA, 50, 200 y 500 mg/L de ANA y AIB), sobre la viabilidad y enraizamiento de agraz en dos sustratos (suelo + turba en relación 1:1 y turba) y, la segunda fase, con el objetivo de evaluar AIB en distintas concentraciones (0, 50, 100, 500, 1.000 y 2.000 mg/L) sobre un solo sustrato (escoria + suelo en relación 1:1), encontraron que los tratamientos con AIB y AIA aumentan la viabilidad de las estacas de agraz; que las estacas jóvenes demuestran mayor actividad rizogénica y el uso de hormonas es viable para inducir el desarrollo de las raíces adventicias en esta especie.

Consiguientemente, concluyeron que el mejor tratamiento para enraizar las estacas fue AIB 200 mg/L aplicado a la base, donde el porcentaje de enraizamiento después de dos meses de aplicación fue 18,7% y, a su vez, presentó el mayor número de raíces por planta, con un promedio de 3,3.

Meiners *et al.*,(2007) al desarrollar un sistema de propagación *in vitro* eficiente para *V. corymbosum* cv 'Ozarkblue' (blueberry) y *V. vitis-idaea* cv 'Red Pearl' (lingoberry), concluyeron que el AIB fue superior al ANA para la inducción del enraizamiento *in vitro* en ambos cultivares del género *Vaccinium*.

Castillo y Marín (1994), en el enraizamiento *in vivo* de microestaquillas de patrones frutales híbridos de durazno x almendro ('Adafuel y Adarcias'), señalan que el tratamiento más eficaz, tanto por el porcentaje de enraizamiento como por el aspecto y posterior crecimiento de las plantas, fue la aplicación basal de AIB en solución acuosa en una concentración de 0,001 M ( $10^{-3}$ M).

Estas experiencias avalan la efectividad del AIB sobre la rizogénesis de diferentes especies. Sin embargo, Stohmann (2006) al analizar el efecto del AIB sobre el enraizamiento de estacas de *V. corymbosum* cv. Elliot en las concentraciones 0, 500, 1000 y 1500 ppm en los sustratos corteza de pino/aserrín (50:50) y (70:30), no encontró un efecto directo del AIB sobre la capacidad de enraizamiento del cultivar Elliot. Sugiriendo tan solo para la propagación de esta especie, el sustrato corteza de pino/aserrín (50:50).

Schuch *et al.*,(2007) al analizar el efecto de dos sustratos (Arena y un Producto comercial) y tres concentraciones de IBA (0, 1000 y 2000 mg/L) en *Vaccinium Ashe* Reade cv 'Climax' no encontraron diferencias estadísticamente significativas a favor de AIB.

Otra auxina utilizada con frecuencia en la promoción de raíces es el ANA, y es definida como una auxina sintética (Salisbury y Ross, 1992; Weaver, 1996). El ANA por lo común es más efectivo que el AIA por su mayor persistencia (Salisbury y Ross, 1992). Sin embargo, este compuesto es más tóxico que el AIB y deben evitarse las concentraciones excesivas por el peligro de provocar daños a las plántulas (Weaver, 1996).

Ferri (2008), al analizar los factores que intervienen en la multiplicación y enraizamiento del grupo blueberry rabbiteye, obtuvo los mayores porcentajes de enraizamiento *in vitro* con AIB en 6  $\mu$ M y la mayor longitud de raíces con 6  $\mu$ M ANA.

Puente y Marín (1994), al ensayar la influencia de varios factores sobre el enraizamiento *in vitro* de manzano (*Malus x domestica* Borkh.) M.9 Jork en presencia de riboflavina con una fase de oscuridad y otra de luz, no apreciaron ninguna diferencia en el porcentaje de enraizamiento estimulado por ANA y AIB, pero sí notaron el efecto en el número de raíces que fue mucho mayor con AIB.

Esto demuestra que entre distintas especies existen respuestas similares, o bien, completamente distintas a la estimulación de la rizogénesis, haciendo necesario probar no sólo las distintas concentraciones, sino también diferentes auxinas para mejorar los niveles de enraizamiento de las especies de interés. Pierik (1990), señala que las plantas leñosas requieren concentraciones mayores de auxina que las plantas herbáceas, destacando que el enraizamiento en especies leñosas es con frecuencia más difícil, ya que en ocasiones las raíces generadas *in vitro* no son funcionales y necesitan ser reemplazadas *in vivo* por nuevas raíces adaptadas al suelo.

Ostrolucká *et al.*, (2007) consideran que el factor limitante en la micropropagación de especies del género *Vaccinium* es la transferencia de las plántulas a un ambiente no estéril, dependiendo de la diferente sensibilidad de los genotipos.

**2.4.6 Enraizamiento *ex vitro* y aclimatación.** La función de la etapa de aclimatación consiste en la preparación de las plántulas obtenidas *in vitro* para trasplantarlas del medio artificial heterótrofo a una existencia de vida autótrofa en el invernadero y luego en su sitio definitivo (López, 2002). Esta preparación puede implicar el enraizamiento, pero también implica un

cambio en la fisiología de las plantas que estimula la fotosíntesis, la absorción de agua y nutrientes por las raíces y la resistencia a la disecación y a los organismos patógenos (Hartmann y Kester, 1998).

Durante la aclimatación, las plántulas enraizadas desarrollan raíces y hojas en pleno funcionamiento, y el crecimiento de los brotes se inicia o acelera. Si bien todas las plantas micropropagadas deben pasar por esta etapa, la aclimatación se puede producir al mismo tiempo, como en el enraizamiento *in vivo*, lo que simplifica el procedimiento y permite reducir los costos (Zimmerman, 1988; Debnath, 2004).

A pesar de que el enraizamiento *in vitro* ofrece varias ventajas, incluyendo una menor exposición a enfermedades y estrés ambiental durante el proceso de rizogénesis, las plántulas pueden ser producidas más rápidamente por la eliminación del enraizamiento *in vitro* (Debnath, 2004). Esto consiste en inducir y provocar la formación de raíces una vez que los microtallos obtenidos por micropropagación son colocados en condiciones *ex vitro* en un sustrato adecuado (Castillo y Marín, 1994), que puede estar compuesto de turba y perlita en relación 1:1 (v/v) (González et al., 2000), o bien, de otro sustrato puro o mezclado utilizado convencionalmente (Zimmerman, 1988).

Paulouski (2007), al analizar la influencia de las condiciones de corte, sustrato y temperatura sobre la capacidad de regeneración de tres variedades de *V. corymbosum*, a saber: Earliblue (en turba y Mulch con arena), Bluecrop (en turba pura) y Coville (en una mezcla de turba con arena), no obtuvo diferencias significativas entre los sustratos utilizados. En cuanto a la temperatura, señala que las camas con calefacción producen un moderado aumento en el enraizamiento, destacando que la calefacción del sustrato tuvo un efecto beneficioso sólo en la formación del sistema radicular.

Respecto a los resultados de este tipo de enraizamiento, McClelland *et al.* (1990) describe las raíces obtenidas con una mejor calidad y desarrollo anatómico respecto a las producidas *in vitro*. Si bien en la misma investigación, realizada sobre *Acer rubrum* L. Red Sunset, *Betula nigra* L., y *Malus x domestica* Borkh Mchintosh, obtuvo un mayor número de raíces formadas en un menor tiempo con mayor diámetro mediante enraizamiento *in vitro*, destacando que los sistemas vasculares en estas raíces eran subdesarrollados (solamente con tejidos vasculares primarios) en comparación con las raíces obtenidas *ex vitro*, que produjeron cambium vascular y crecimiento secundario durante la misma primera etapa de la producción.

Respuestas similares hallaron Smith *et al.*, (1992), donde la rizogénesis *in vitro* favoreció el desarrollo de microtallos herbáceos y leñosos, pero dio lugar a raíces subdesarrollados para especies leñosas, y sin actividad secundaria en el cambium vascular hasta después del trasplante *ex vitro*.

Grout y Aston, citado por López (2002) observaron cómo tras el enraizamiento *in vitro* de sus plantas la zona de transición entre la raíz y el tallo era anormal, con unas conexiones vasculares débiles y malformadas, lo que producía problemas en la absorción y circulación de agua desde las raíces al tallo. También se ha observado que las raíces formadas *in vitro* son gruesas y con pelos radicales engrosados y anormales, siendo sus sistemas vasculares anómalos, en comparación con las raíces formadas en condiciones *ex vitro* (McClelland *et al.*, 1990).

Al respecto, Pierik (1990) señala que:

Las plantas cultivadas en tubos de ensayos tienen la cutícula escasamente desarrollada, debido a la alta humedad relativa, 90 a 100%, que se da *in vitro*. Como consecuencia, cuando se transfiere la planta al suelo, se produce una transpiración cuticular extra, ya que la humedad del aire en condiciones *in vivo* es más baja. Las hojas de una planta producida *in vitro*, son frecuentemente finas, blandas y fotosintéticamente poco activas, y en consecuencia mal adaptadas a las condiciones que se pueden

encontrar *in vivo*. Además sus estomas pueden ser menos operativos y generar estrés hídrico durante las primeras horas de traspaso al suelo.

Las raíces que se han originado *in vitro* son vulnerables y no funcionan de forma adecuada *in vivo* por lo que mueren rápidamente y deben ser reemplazadas por nuevas raíces subterráneas. (p 127-128)

Rogers y Smith (1992), señalan que el enraizamiento *ex vitro* tiende a producir mayor número y longitud de raíces. En su estudio sobre *Rosa chinensis* var. *minima*, notaron que las raíces *ex vitro* eran flexibles, blancas y ramificadas, mientras que las raíces *in vitro* eran frágiles, de color más oscuro y carecían de ramificaciones.

Zhang *et al.*,(2006), señalan que el enraizamiento *ex vitro* de los microtallos obtenidos *in vitro*, es un método muy económico y eficaz para las especies del género *Vaccinium*, donde se pueden obtener buenos porcentajes de enraizamiento después de sumergirlos brevemente en 1000 - 2000 mg/L de AIB (o ANA) o empaparlos lentamente en 2,5 y 10 mg/L de AIB.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 Lugar de trabajo:

La presente investigación fue realizada en el Módulo de micropropagación de plantas frutales arbustivas del Campo Experimental Maquehue de la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales de la Universidad de La Frontera.

#### 3.2 Materiales

**3.2.1 Material vegetal:** Corresponde a microtallos de arándano alto de las variedades Brigitta y Legacy. La selección de microtallos fue realizada de acuerdo a características morfológicas (diámetro del tallo, turgor de la hoja entre otras) y se llevó a cabo en condiciones estériles en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales.

#### 3.2.2 Materiales de laboratorio.

**3.2.2. a Equipos:** Autoclave, cámara de flujo laminar, balanza analítica, agitador de tubos.

**3.2.2. b Materiales:** Bisturí, pinzas, espátula, tijeras, tubos falcon (4), dosificador de hormonas, hidróxido de Potasio (KOH), agua destilada, micropipetas, puntas para micropipetas, placas petris, erlenmeyer de 250 ml, papel aluminio, frascos de vidrio de 250 ml.

**3.2.3 Materiales de invernadero:** Bandejas speedling, turba, pinzas, agua destilada, cronómetro, plumones, papel rotulador, lupa, regla, cuaderno de anotaciones.

**3.2.4 Auxinas:** Ácido  $\alpha$  - naftalenacético (ANA) y ácido indol -3- butírico (AIB).

### 3.3 Metodología

**3.3.1 Origen del material vegetal:** Los microtallos de las variedades Brigitta y Legacy, provenientes de la etapa de elongación, se obtuvieron del repique número 6 y 9, respectivamente. Las condiciones ambientales en las que se incubaron fueron de un fotoperíodo de 16 horas luz, y 8 horas de oscuridad, una temperatura de  $23 \pm 1^\circ\text{C}$  en el día y  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  de noche con una intensidad lumínica de 2000 lux.

**3.3.2 Preparación de auxinas:** Las dosis de auxinas utilizadas fueron calculadas en laboratorio a partir de la concentración inicial de ingrediente activo de los productos comerciales de formulación en polvo. Buscando una concentración de 200 y 300 mg/L, se pesaron 10 y 15 mg de ANA y AIB, respectivamente, en una balanza analítica previamente calibrada. Posteriormente el contenido fue disuelto con 1 ml de KOH en tubos falcón y llevados a 50 ml con agua destilada para obtener una solución de 200 y 300 ppm, respectivamente.

**3.3.3 Enraizamiento de microtallos:** Los microtallos fueron extraídos del agar proveniente de la etapa de elongación *in vitro* y posteriormente lavados en agua destilada para remover los restos de agar y compuestos del medio de cultivo anterior. La zona basal de los microtallos fue sumergida por 10 segundos en las auxinas ANA y AIB de acuerdo al experimento (Cuadro 1) y colocados en bandejas speedling con turba humedecida mediante agua esterilizada. Estas

bandejas fueron colocadas en camas con calefacción (cama caliente) y mantenidas a una temperatura de 25°C y una humedad relativa del 95%.

Se aplicó riego por microaspersión durante los tres meses que duró el ensayo.

**Cuadro 1:** Resumen de los tratamientos realizados a los microtallos de *V. corymbosum* variedades Brigitta y Legacy, por tipo de auxina y concentración.

| <b>Variedades</b> | <b>Auxinas</b> | <b>Dosis (ppm)</b> |
|-------------------|----------------|--------------------|
| Brigitta          | ANA            | 0                  |
| Legacy            | AIB            | 200                |
|                   |                | 300                |

**3.3.4 Diseño experimental:** El diseño experimental utilizado fue completamente al azar, ordenado como experimento factorial 2x2x3, donde 2 son variedades (Brigitta y Legacy), 2 auxinas (ANA y AIB), 3 dosis (0, 200, 300 ppm); con 21 repeticiones por tratamiento.

**3.3.5 Evaluación de resultados y análisis estadístico:** Al cabo de 90 días, los microtallos se retiraron cuidadosamente de las bandejas, y se lavaron con agua destilada para retirar los restos de sustrato adheridos. Las variables de respuesta que se evaluaron fueron el número de raíces, longitud de raíces (mm) y porcentaje de enraizamiento (%).

Los datos obtenidos fueron sometidos a la prueba de Normalidad y Homogeneidad de varianza. En función de estos supuestos se realizaron ANOVA o Kruskal-Wallis para cada caso. Para la presentación de resultados, se realizaron test de comparaciones múltiples según Tukey y Kruskal-Wallis, fijando un nivel de significancia del 5%.

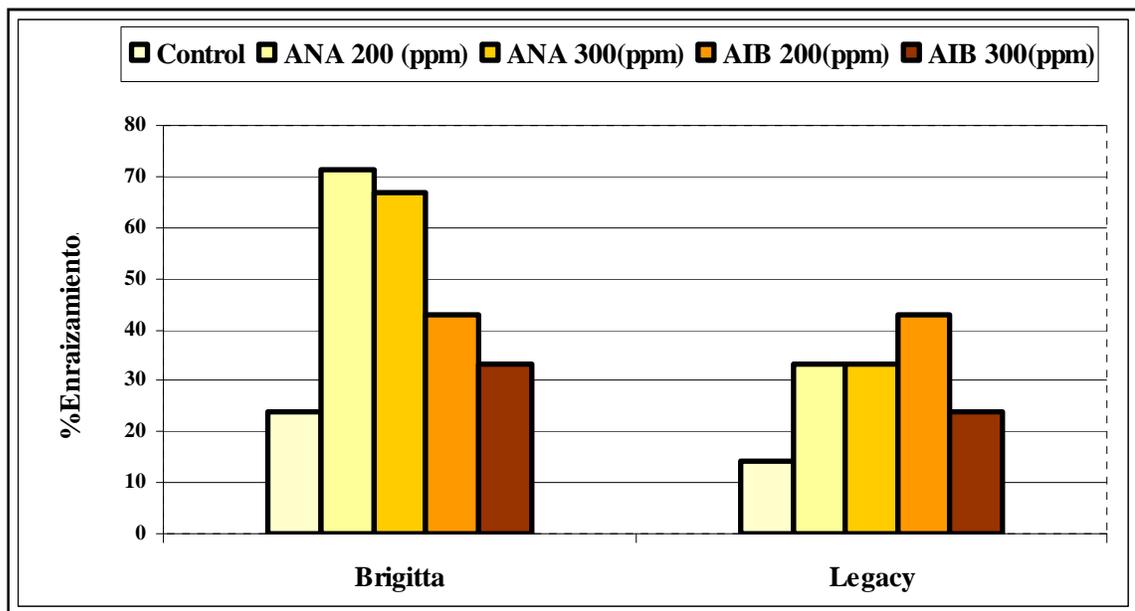
El análisis estadístico fue realizado con SPSS y G-Stat Student, mientras que los gráficos fueron generados en Microsoft Excel de Windows.

## 4. PRESENTACIÓN DE LOS RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

### 4.1 Respuesta Rizogénica.

La respuesta rizogénica fue medida principalmente por el porcentaje de enraizamiento, analizándose el efecto de los tratamientos sobre el número de raíces producidas y la longitud (mm) de éstas.

**4.1.1 Porcentaje de Enraizamiento.** El análisis de los resultados obtenidos se resume para los tratamientos en la Figura 1.



**Figura 1.** Porcentaje de enraizamiento de microtallos de *Vaccinium corymbosum* var. *Brigitta* y *Legacy* tratados con ANA y AIB en diferentes concentraciones.

Al analizar los resultados del porcentaje de enraizamiento es posible deducir que existen diferencias en los resultados obtenidos para el factor tipo y dosis de auxina aplicada, con lo que

se demuestra el efecto de éste sobre la respuesta al enraizamiento de los microtallos. Para la variedad Brigitta, el mayor porcentaje de enraizamiento se obtuvo con la aplicación de ANA en la dosis de 200 ppm, generando un 71% de enraizamiento (3 veces mayor que el respectivo control), seguido de ANA 300 ppm con un 67%. En cambio para la variedad Legacy, el mayor porcentaje de enraizamiento se logró con la aplicación de AIB en 200 ppm, con un 43% de microtallos enraizados. Esto coincide con Castrillón *et al.*, (2008), que al evaluar el efecto de AIA, AIB y ANA en diferentes concentraciones (0, 50, 100, 500, 1.000 y 2.000 mg/L), sobre el enraizamiento de estacas de agraz (*Vaccinium meridionale*), concluyeron que el mejor tratamiento para enraizar las estacas fue AIB 200 mg/L aplicado a la base, donde el porcentaje de enraizamiento después de dos meses de aplicación fue de 18,7%.

En Legacy, si bien en el presente estudio el AIB en 200 ppm alcanzó resultados 3 veces mayores al respectivo control, su aplicación en 300 ppm los redujo a la mitad (24%). Esto indica que el óptimo para esta variedad, se encuentra en un valor intermedio del rango 0 a 200 ppm, o tal vez de 0 a 250 ppm para esta auxina.

Latsague *et al.*, (2009), al tratar estacas de *Eucryphia glutinosa*, con diferentes dosis de AIB (0, 250, 500, 1.000 y 1.500 mg/L) para aumentar el nivel de enraizamiento de la especie, obtuvieron los mejores resultados en la concentración de 500 mg/L, con un 56,5% de enraizamiento. Si bien se trata de especies distintas, y con diferentes rangos de dosis, coinciden en la utilización de una dosis intermedia de AIB como mejor alternativa de enraizamiento.

Una tendencia común a ambas variedades se presentó al aumentar las concentraciones de las auxinas, indicando así una posible inhibición de esta respuesta a altas concentraciones hormonales. Hartmann y Kester, (1998) señalan que la rizogénesis puede ser afectada negativamente por una excesiva acumulación de auxinas. Las mayores concentraciones de ANA sugieren un efecto inhibitorio del enraizamiento, y posiblemente tóxico. Weaver (1996), señala

que esta auxina no debe ser aplicada en altas concentraciones ya que produce efectos no deseados en el desarrollo de las plantas.

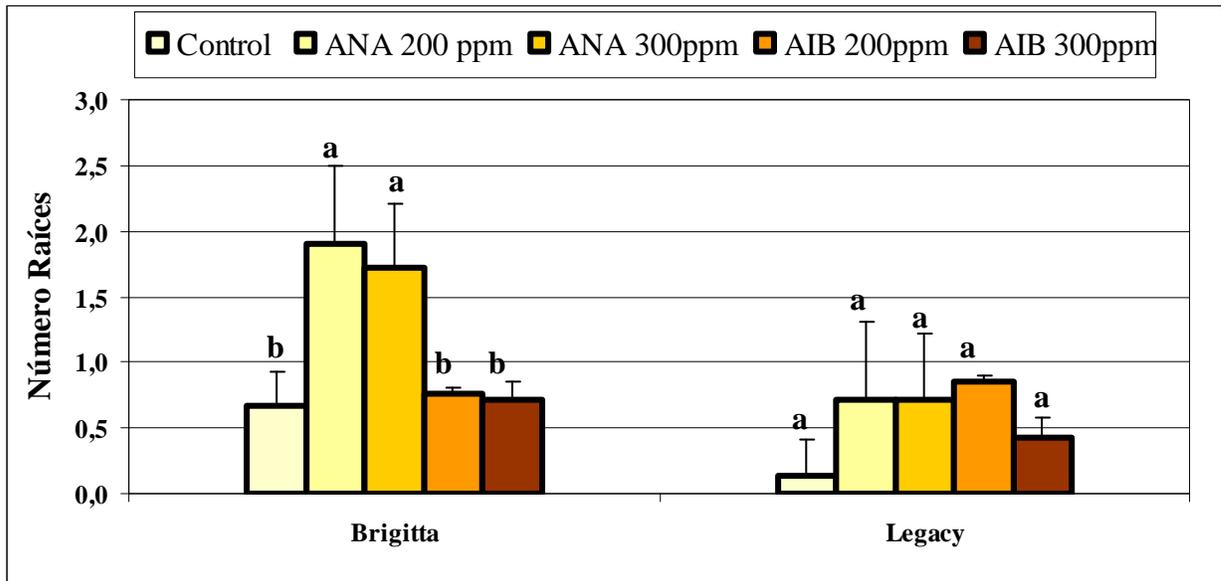
Para cada variedad la respuesta fue diferente al tipo de auxina utilizada. Brigitta mostró una mejor respuesta con ANA, mientras que Legacy, incremento su enraizamiento con AIB. Lo que tendría explicación en lo descrito por Margara (1988) y Paulouskí (2007) quienes atribuyen un rol importante a los factores genéticos en la rizogénesis, tras descubrir diferencias en la capacidad de enraizamiento entre especies de un mismo género. En esta respuesta podría influir también, el número de repiques que presentan los microtallos, pudiendo generar un efecto negativo en la capacidad de enraizamiento en la medida que aumenta el número de repiques en la etapa de multiplicación.

En términos generales, la variedad Brigitta mostró una mayor capacidad de enraizamiento que Legacy, con un mayor porcentaje de enraizamiento promedio (48% y 30% respectivamente).

**4.1.2. Número de Raíces:** Jarvis, citado por Marín (1997) señala que el número de raíces final está limitado en la etapa de crecimiento de la rizogénesis, donde las primeras raíces que se desarrollan inhiben el crecimiento de las demás, adaptándolo a las necesidades de la nueva planta. Lo que ocurriría durante la segunda y tercera semana de iniciado el enraizamiento.

Por ello, en el presente estudio, se le concedió especial importancia a la etapa de establecimiento y primeras semanas de desarrollo del ensayo.

Los resultados obtenidos para la variable número de raíces por tratamiento, se resume en la figura 2.



\* Letras distintas indican diferencias significativas según comparaciones múltiples de Kruskal-Wallis.

**Figura 2.** Número de raíces generadas en microtallos de *Vaccinium corymbosum* tratados con ANA y AIB en diferentes concentraciones. *Barras de error indican error típico.*

Al analizar los resultados se deduce que el factor tipo y dosis de auxina tiene efecto diferencial en el número de raíces de la variedad Brigitta y Legacy.

En Brigitta, la aplicación de ANA en 200 y 300 ppm, produjeron un incremento estadísticamente significativo ( $p < 0,05$ ) en la variable número de raíces, con un promedio de 1,9 y 1,7 raíces por microtallo, respectivamente.

En la figura 3 se puede observar los resultados del tratamiento ANA 200 ppm en la variedad Brigitta.



Figura 3. Enraizamiento de plántulas de arándano alto variedad *Brigitta* utilizando ANA 200 ppm.

En la variedad Legacy, no se registraron diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ) para los diferentes tratamientos aplicados.

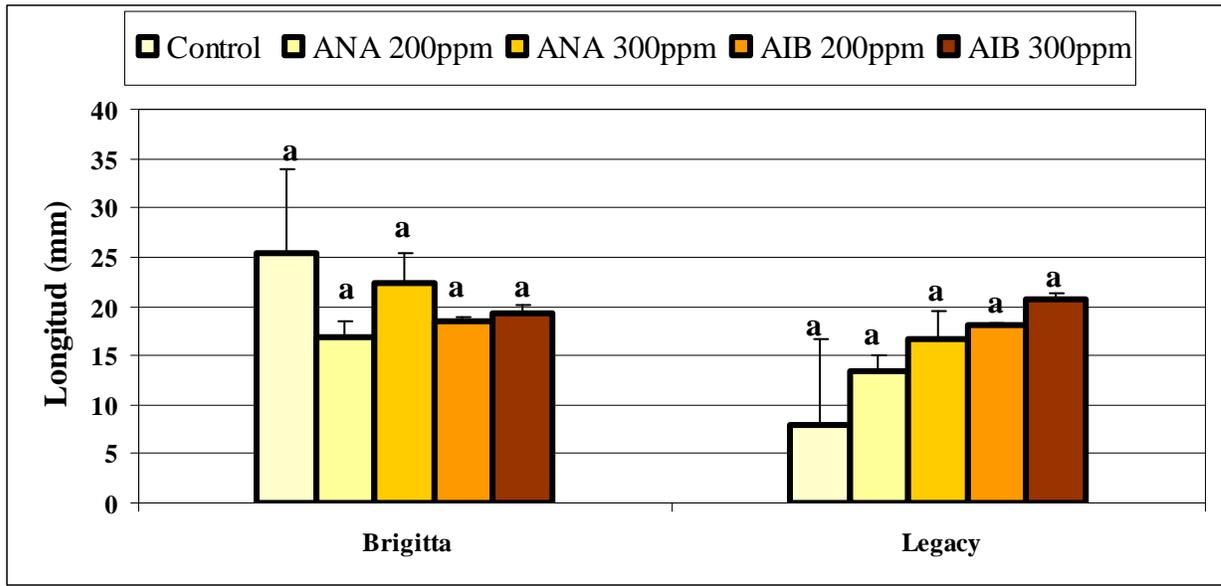
Para la variedad Brigitta, el mayor número de raíces formadas se produjo con la dosis menor de ANA (200 ppm). Al aumentar la dosis a 300 ppm, el número de raíces por microtallo disminuyó de forma leve (no estadísticamente significativa  $p > 0.05$ ), pero notoria. Lo mismo ocurre con las dosis de AIB en esta variedad. Esto corresponde a una tendencia descrita por Zhao *et al.*, (2008), quienes al analizar el efecto de AIB sobre el número de raíces generadas en *V.angustifolium* variedad 'Blomidon' con diferentes concentraciones (0,5, 10, 15, 20 mM), observaron que el mayor número de raíces se obtuvo con 10mM de AIB (9 raíces/plántula), y al aumentar la dosis a 15 y 20 el número promedio de raíces disminuyo a 7.8 y 3.9 respectivamente. Esto sugiere que el número de raíces generadas no sólo se ve afectado por el tipo de auxina, sino también por la dosis.

A diferencia de Brigitta, en Legacy la respuesta de los diferentes tipos de auxinas, no es del todo clara, ya que si bien se produjeron diferencias en el número de raíces respecto al control, estas no demostraron ser estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ). Esto podría deberse a una menor capacidad rizogénica de la variedad, determinada por factores genéticos, como lo señala Paulouski (2007).

En el presente estudio, AIB no produjo incrementos significativos sobre el grupo control en Brigitta y Legacy. Sin embargo, el número de raíces en ambas variedades fue similar. Esto coincide con Stohmann (2006), que al evaluar el efecto de AIB sobre la capacidad rizogénica de *V. corymbosum* var. Elliot, no obtuvo diferencias significativas en el número de raíces generadas, donde el número de raíces por estaca enraizada fue de 7 en 1000 ppm, y 6.43 para el grupo control (estacas colectadas en otoño).

En resumen, y considerando las iguales condiciones, tanto de sustrato, reguladores de crecimiento y condiciones físicas y morfológicas de los microtallos enraizados, Legacy mostró una menor capacidad para generar raíces que Brigitta, lo que se puede atribuir a diferencias varietales. Al respecto, Paulouski (2007) señala que la capacidad de enraizamiento de *V. corymbosum* varía según las características de las variedades.

**4.1.3. Longitud de raíces:** Los resultados obtenidos para la variable longitud de raíces (mm) se resumen en la figura 4.



\* Letras iguales indican la no existencia de diferencias significativas, según comparaciones múltiples de Tukey ( $p > 0,05$ ).

**Figura 4.** Longitud de raíces por tipos y dosis de auxinas para ambas variedades. *Barras de error indican error típico.*

El factor tipos y dosis de auxina, no produce efectos directos en la longitud de las raíces generadas *ex vitro* (Fig. 4). Independientemente de los tratamientos aplicados, tanto en Brigitta como Legacy, no se obtuvieron diferencias significativas ( $p > 0, 05$ ) para la variable longitud de raíces.

Estos resultados difieren de Zhao *et al.*,(2008) que al estudiar los efectos del AIB sobre el enraizamiento de *V.angustifolium* var. ‘Blomidon’, obtuvieron una longitud de 39mm empleando 10  $\mu\text{M}$  de AIB y, notaron que al aumentar la dosis de auxina, de 10 a 15  $\mu\text{M}$ , la longitud de las raíces generadas disminuyó a 16mm, en tanto que la dosis de 20  $\mu\text{M}$  produjo la menor longitud de raíces con 10mm promedio. También observaron, que al aumentar la dosis de AIB, la raíz

principal se hizo más gruesa y las ramificaciones muy delgadas, dando al sistema radical una menor consistencia y eficacia.

Gil (1999), señala que la elongación de raíces está relacionada a AIA, el cual es estimulador en una baja concentración ( $10^{-8}\text{M}$ ), pero se torna inhibidor sobre  $10^{-6}\text{M}$ , hasta ser, incluso tóxico. Mientras que la concentración promotora de brotes es mucho mayor,  $2 \times 10^{-5}\text{M}$ . Destacando, que la raíz es más sensible que el tallo a la presencia de auxinas. Esto sugiere que la auxina endógena de los microtallos es suficiente para estimular el enraizamiento en ausencia de auxina exógena; esto podría explicar la longitud alcanzada (25 mm) en el tratamiento control (Pierik, 1990; Weaver, 1996).

En Legacy, si bien no se hallaron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos, se apreció una leve tendencia en el aumento de longitud de las raíces generadas al aumentar las concentraciones de auxinas, tanto ANA como AIB. Esto difiere de lo planteado por Gil, (1999) quien señala que la longitud de las raíces generadas disminuye con dosis elevadas de auxinas. Considerando que el desarrollo de las raíces se realiza con bajas concentraciones de auxina.

En resumen, para las diferentes variables evaluadas, el AIB produjo una respuesta aproximadamente similar en ambas variedades, obteniendo un porcentaje de enraizamiento igual en la dosis 200 ppm (43%), igual número de raíces promedio (0,9) con igual longitud (19 mm). Esto demuestra una actividad más estable del AIB en los microtallos tratados (Weaver, 1996) y coincide con los investigadores Celik y Odabas (2008), que basándose en esta homogeneidad de resultados por la aplicación de AIB, han desarrollado un modelo matemático para predecir el porcentaje de enraizamiento y crecimiento de raíces con dos ecuaciones obtenidas tras analizar la respuesta de 6 variedades de arándano (Ivanhoe, Jersey, Rekord, Northland ,Berkeley y Bluejay) a la aplicación de AIB.

En la figura 5 se puede observar los resultados del tratamiento AIB 200 ppm en la variedad Legacy.



Figura 5. Enraizamiento de plántulas de arándano alto var. Legacy empleando AIB 200 ppm.

Birchler *et al.* (1998) señalan que la morfología y los índices morfológicos son algunos de los atributos que caracterizan a la planta ideal, entre los que destacan la altura y la relación parte aérea/parte radical, siendo esta última de mayor certeza por su importancia en balance hídrico y definiéndose como el peso seco de cada una de las partes. Si bien, en el presente estudio estas mediciones no fueron realizadas, el desarrollo de las plántulas de la variedad Brigitta fue claramente superior a la variedad Legacy (**Fig.3 y Fig. 5**) tanto en altura como en número de raíces. Considerando la similitud de la longitud de raíces alcanzada por ambas variedades con los diferentes tratamientos aplicados, al evaluar la calidad de las plántulas obtenidas, y las posibilidades de desarrollo en condiciones de campo, la variedad Brigitta presenta aparentemente una mayor probabilidad de adaptación y con ello una mayor calidad. Sin embargo, los mismos investigadores señalan que muchas plantas de invernadero pueden presentar un aspecto robusto y vigoroso y no ser capaces de comportarse adecuadamente en condiciones de campo, donde las condiciones de humedad, luz, temperatura y nutrientes no son

controladas. Sugiriendo con esto, una coordinación fenológica con el medio en que las plantas serán establecidas, donde se debe reiniciar el crecimiento radical.

## 5. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en la presente investigación se puede concluir que:

- Ambas variedades presentan una respuesta diferencial a la estimulación de la rizogénesis con las auxinas ANA y AIB en las concentraciones 0, 200 y 300 ppm en condiciones *ex vitro*.
  
- Para la variedad Brigitta, la mejor respuesta rizogénica se generó con la aplicación de ANA en la concentración de 200 ppm, obteniéndose un 71% de enraizamiento, y 1,2 raíces promedio por planta. Para Legacy, la mejor respuesta se obtuvo con AIB en 200 ppm, con un 43% de enraizamiento.
  
- El tipo y dosis de auxinas evaluadas no tienen efecto directo sobre longitud de raíces.
  
- Comparativamente, Brigitta posee una mayor capacidad rizogénica que Legacy.

Para futuros trabajos, se sugiere realizar ensayos con las auxinas ANA y AIB en las concentraciones de 0, 50 y 100 ppm para Brigitta y Legacy.

## 6. RESUMEN

En el Módulo de micropropagación de plantas frutales arbustivas del campo Experimental Maquehue de la Universidad de La Frontera, se analizó el efecto de diferentes tipos y dosis de auxina sobre la capacidad de enraizamiento de *Vaccinium corymbosum* L. variedades 'Brigitta' y 'Legacy' en condiciones *ex vitro*. Se utilizó como sustrato turba, manteniendo los ensayos en camas calientes con una humedad relativa del 95% y una temperatura promedio de 25°C. Los microtallos fueron obtenidos por micropropagación de la etapa de elongación. Los tratamientos aplicados consistieron en ácido  $\alpha$ -naftalenacético (ANA) y ácido indol-3-butírico (AIB) en las dosis: 0, 200 y 300 ppm. Las respuestas fueron medidas a través de las variables porcentaje de enraizamiento, número y longitud de raíces (mm). Los resultados fueron sometidos a análisis de varianza (anova) y pruebas de rango múltiple de Tukey y Kruskal-Wallis fijando un nivel de significancia del 5%.

Los resultados obtenidos por variedad mostraron que ANA 200 ppm fue el mejor tratamiento para 'Brigitta', con un 71% de enraizamiento y un promedio de 1,9 raíces por planta. No se hallaron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) para la variable longitud de raíces. En 'Legacy', la mejor respuesta se obtuvo con AIB 200 ppm, con un 43% de enraizamiento. No hubieron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) para las variables número y longitud de raíces.

Al comparar las variedades, 'Brigitta' presentó una mayor respuesta a la estimulación rizogénica con un 48 % de enraizamiento, y 1,2 raíces promedio. Para la variable longitud de raíces no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0, 05$ ).

## 7. ABSTRACT

In the Module Micropropagation of shrubby fruit plants in the Experimental field of Universidad de La Frontera, was examined the effect of different types and doses of auxin on rooting ability of *Vaccinium corymbosum* L. varieties 'Brigitta' and 'Legacy' in *ex vitro* conditions. Peat was used as substrate, keeping the tests in hot beds with a relative humidity of 95% and a temperature of 25° C. The microshoots were obtained by micropropagation in the elongation phase. The treatments consisted of  $\alpha$ -naphthaleneacetic acid (NAA) and indole-3-acid butyric acid (IBA) in the doses: 0, 200 and 300 ppm. The responses were measured through variables rooting percentage, number and roots length (mm). The results were analyzed using variance analyse (ANOVA) and multiple range tests of Tukey and Kruskal-Wallis setting a significance level of 5%.

The results of variety show that ANA 200 ppm was the best treatment for 'Brigitta', with 71% rooting and an average of 1.9 roots per plant. Was found no significant differences ( $p > 0.05$ ) for the variable for root's length. In 'Legacy', the best response was obtained with IBA 200 ppm, with 43% rooting. There were no significant differences ( $p > 0.05$ ) for the variables number and length of roots.

Comparing the varieties, 'Brigitta' presents a greater response to stimulation rizogénica with 48% rooting, roots and 1.2 average. For the variable for root's length found no statistically significant differences ( $p > 0, 05$ ).

## 8. LITERATURA CITADA

- Barceló, J., Nicolás, G., Sabater, B. y Sánchez, R.** 1988. Fisiología vegetal. Ediciones Pirámide, S.A. Madrid, España. 818 p.
- Birchler, T., Rose, R., Royo, A. y Pardos, M.** 1998. La planta ideal: Revisión del concepto, parámetros definitorios e implementación práctica. Invest. Agr.: Sist. Recur. For. Vol. 7 (1 y 2), p 109-121.
- Buzeta, A.** 1997. Chile: Berries para el 2000. Capítulo II, Arándano. Fundación Chile. p 52-59.
- Castillo, P. y Marín, J.** 1994. Enraizamiento *in vivo* de patrones frutales micropropagados. Publicación del Departamento de Pomología- E.E. de Aula Dei (CSIC). Zaragoza, España. p 138-144.
- Castrillón, J., Carvajal, E., Ligarreto, G. y Magnitskiy, S.** 2008. El efecto de auxinas sobre el enraizamiento de las estacas de agraz (*Vaccinium meridionale* Swartz) en diferentes sustratos. Agronomía Colombiana 26 (1), 16-22, 2008.
- Celik, H. y Odabas, M.** 2008. Mathematical modeling of the indole-3-butyric acid applications on rooting of northern highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) softwood-cutting. Acta Physiologiae Plantarum. Volume 31, Number 2. p 295-299.
- Debnath, S.** 2004. In Vitro Culture of Lowbush Blueberry (*Vaccinium angustifolium* Ait.). The Haworth Press, Inc. Vol. 3, No. 3/4, 2004. p 393-408.
- Debnath, S.** 2006. Propagation of *Vaccinium in vitro*: A Review. International Journal of Fruit Science, Vol. 6(2) 2006.
- Ellena, M.** 2005. Arándanos: Cultivo de alta perspectiva económica. Artículo revista tattersall, Chile. Artículo electrónico. Mayo- Junio 2005. Vol 193 <http://www.tattersall.cl/revista/centro.htm>
- Ferri, J.** 2008. Micropropagation and vegetative development of blueberry. Ciencia rural. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. Brasil. 56 p.
- Georgieva, M. y Kondakova, V.** 2008. Proceedings of international scientific conference: Sustainable Fruit Growing: From Plant To Product”. Jūrmala – Dobeles, Latvia. P. 134-140.

- Gil, G.** 1999. Fruticultura: El potencial Productivo. Editorial Universidad Católica de Chile, Ediciones. Santiago, Chile. Tercera edición. 342 p.
- Gonzalez, M., Lopez, M., Valdes, A. y Ordas, R.** 2000. Micropropagation of three berry fruit species using nodal segments from field-grown plants. *Ann. Appl. Biol.* 137:73-78.
- Hartmann, H. y Kester, D.** 1998. Propagación de plantas: Principios y Prácticas. Compañía Editorial Continental S.A. de C.V. México. 760 p.
- Latsague, H., Sáez, P. y Yáñez, C.** 2009. Efecto del ácido indolbutírico en la capacidad rizogénica de estacas de *Eucryphia glutinosa*. *BOSQUE* 30(2): 102-105, 2009.
- López, C.** 2002. Enraizamiento y aclimatación de plantas obtenidas *in vitro*. Artículo electrónico de Catedrático Universidad de Málaga, España.  
<http://www.encuentros.uma.es/encuentros31/enraizamiento.html>
- Margara, J.** 1988. Multiplicación vegetativa y cultivo *in vitro*. Los meristemas y la organogénesis. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España.
- Marín, J.** 1997. La micropropagación y la mejora de especies frutales. Discurso en acto de su recepción solemne celebrado el día 10 de Abril de 1997, Publicado por la Academia de Ciencias Exactas, Físicas, Químicas y Naturales de Zaragoza. Zaragoza, España. p 11-39.
- McClelland, M. Smith, M. y Carothers, Z.** 1990. The effects of *in vitro* and *ex vitro* root initiation on subsequent microcutting root quality in three woody plants. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. Volume 23, Number 2. p 115-123.
- Meiners, J., Schwab, M. y Szankowski, I.** 2007. Efficient *in vitro* regeneration systems for *Vaccinium* species. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 89 (2-3), pp. 169-176
- Muñoz, C.** 1988. Arándano: Antecedentes generales. Instituto de Investigaciones Agropecuarias Carillanca. Seminario: El cultivo del arándano. Temuco, 30 Noviembre, 1 y 2 de Diciembre de 1988. p. 5-16.
- Ostrolucká, M., Ondrušková, G., Gajdošová, A., Libiaková, G. y Šimala, D.** 2007. *In vitro* regeneration and propagation OF *Vaccinium spp.* International Conference *Vaccinium spp.* and Less Known Small Fruits: Cultivation and health benefit and COST 863 Euroberry Research: from Genomics to Sustainable Production, Quality and Health, Joint Meeting WG 3&4. Nitra, Slovak Republic. p.58

- Paulouskí, M.** 2007. Influence of terms of cutting, such as the soil substratum and its temperature conditions on regeneration abilities of green cuttings of *Vaccinium corymbosum* L. International Conference *Vaccinium* spp. and Less Known Small Fruits: Cultivation and health benefit and COST 863 Euroberry Research: from Genomics to Sustainable Production, Quality and Health, Joint Meeting WG 3&4. Nitra, Slovak Republic. p. 56.
- Pierik, R.** 1990. El cultivo in vitro de las plantas superiores. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. 326 p.
- Puente, J. y Marín, J.** 1994. Estudio del enraizamiento *in vitro* del manzano (*Malus x domestica* Borkh.) con riboflavina. Publicación del Departamento de Pomología- E.E. de Aula Dei (CSIC). Zaragoza, España. p. 121-128.
- Puente, J.** 1996. Enraizamiento *in vitro* del Manzano. Tesis Doctoral. Universidad de Salamanca, España. 184 p.
- Rios, D.** 1996. Bases histomorfológicas y moleculares de la rizogénesis en tejidos cotiledonares de *Juglans regia* L. Tesis PhD. Universidad de Oviedo, España.
- Rogers, R. y Smith, M.** (1992). Consequences of *in vitro* and *ex vitro* root initiation for *miniature rose* production. Journal of Horticultural Science (United Kingdom). Vol. 67(4) p. 535-540
- Salisbury, F. y Ross, C.** 1992. Fisiología vegetal. Grupo Editorial Iberoamérica. México 759 p.
- Schou, T., Bogh, H., Willingham, A., Bruck, I., Nielsen, C., Sorensen, E., Eriksen, L., Andreassen J., Pierik, R., Oosterkamp, J. y Ebbing, M.** 1997. Factors controlling adventitious root formation of explants from juvenile and adult *Quercus robur* 'Fastigiata'. Scientia Horticulturae, Volume 71, Number 1, November 1997, pp. 87-92(6)
- Schuch, M., Rossi, A., Damiani, C. y Soares, G.** 2007. IBA and substrate in the plantlets production of Blueberry cv. 'Climax' through microcuttings. Ciencia Rural 37 (5), pp. 1446-1449
- Smith, M., Eichorst, S. y Rogers, R.** 1992. Rhizogenesis pretreatments and effects on microcuttings during transition. Acta Hort. (ISHS) 319:77-82  
[http://www.actahort.org/books/319/319\\_6.htm](http://www.actahort.org/books/319/319_6.htm)
- Stohmann, E.** 2006. Efectos de diferentes sustratos, épocas de colecta y dosis de auxina en el enraizamiento de estacas de arándano (*Vaccinium corymbosum* cv. Elliot). Tesis de Ingeniero Agrónomo. Universidad de La Frontera. Temuco, Chile. 46 p.

- Sudzuki, F.** 1988. Cultivo de frutales menores. Editorial Universitaria S.A. Santiago, Chile. 184 p.
- Weaver, R.** 1996. Reguladores del crecimiento de las plantas en la agricultura. Editorial Trillas, México. 622 p.
- Zhang, Z., Liu, H., Wu, L. y Li, Y.** 2006. Technical system of blueberry micropropagation in China. Acta Hort.(ISHS) 715:421-426  
[http://www.actahort.org/books/715/715\\_63.htm](http://www.actahort.org/books/715/715_63.htm)
- Zhao G., Wang, Z. y Wang.** 2008. *In vitro* Propagation and *ex vitro* Rooting of Blueberry Plantlets. Plant Tissue Cult. & Biotech. 18(1): 187-195.
- Zimmerman, R.** 1988. Micropropagation of woody plants: post tissue culture aspects. Acta Hort.(ISHS) 227: p. 489-499  
[http://www.actahort.org/books/227/227\\_102.htm](http://www.actahort.org/books/227/227_102.htm)

## **9. ANEXOS**

**Anexo N° 1.** Análisis de Varianza y test de comparaciones múltiples, para la variable Número de raíces.

### PRUEBA DE NORMALIDAD

| Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra |                   |           |
|---|-------------------|-----------|
|   |                   | Nº Raíces |
| N   |                   | 210       |
| Parámetros normales <sup>a,b</sup>            | Media             | ,86       |
|   | Desviación típica | 1,303     |
| Diferencias más extremas                      | Absoluta          | ,360      |
|   | Positiva          | ,360      |
|   | Negativa          | -,254     |
| Z de Kolmogorov-Smirnov                       |                   | 5,218     |
| Sig. asintót. (bilateral)                     |                   | ,000      |

a. La distribución de contraste es la Normal.  
b. Se han calculado a partir de los datos.

- No se cumple el supuesto de Normalidad ( $p < 0,05$ ). Por lo tanto los datos deben ser analizados mediante estadística no paramétrica.
- Se decidió trabajar con el estadístico de Kruskal-Wallis por la similitud a Anova en situaciones no paramétricas.

**VARIEDAD BRIGITTA:****ANALISIS DE VARIANZA**

**Anova de kruskal-Wallis para la variable número de raíces por auxina.**

| <b>Kruskal-Wallis</b>  |           |                          |                    |
|--|-----------|--------------------------|--------------------|
| <b>Variable Respuesta:</b>   |           | <b>Numero Raices</b>     |                    |
| <b>Variable Explicativa:</b>                                       |           | <b>Auxina</b>            |                    |
| <b>Número de Casos:</b>  |           | <b>105</b>               |                    |
| -----  |           |                          |                    |
| <b>Grupos</b>  | <b>n</b>  | <b>Suma de Rangos Rn</b> | <b>Rango Medio</b> |
| -----  |           |                          |                    |
| <b>CONTROL</b>   | <b>21</b> | <b>875.5000</b>          | <b>41.6905</b>     |
| <b>ANA 200</b>   | <b>21</b> | <b>1435.5000</b>         | <b>68.3571</b>     |
| <b>ANA 300</b>   | <b>21</b> | <b>1354.5000</b>         | <b>64.5000</b>     |
| <b>AIB 200</b>   | <b>21</b> | <b>990.0000</b>          | <b>47.1429</b>     |
| <b>AIB 300</b>   | <b>21</b> | <b>909.5000</b>          | <b>43.3095</b>     |
| -----  |           |                          |                    |
| <b>Estadístico de Kruskal-Wallis (sin corrección por empates):</b> |           | <b>14.1330</b>           |                    |
| <b>Estadístico de Kruskal-Wallis (con corrección por empates):</b> |           | <b>16.6498</b>           |                    |
| <b>Grados de Libertad:</b>   |           | <b>4</b>                 |                    |
| <b>p-valor:</b>  |           | <b>0.0023</b>            |                    |

- El valor  $p < 0,05$ , indica diferencias significativas en los diferentes tratamientos.

**COMPARACIONES MÚLTIPLES Y GRUPOS HOMOGÉNEOS.**

| <b>Kruskal-Wallis, Comparaciones Múltiples</b> |                      |                    |                          |
|--|----------------------|--------------------|--------------------------|
| <b>Variable Respuesta:</b>                     | <b>Numero Raices</b> |                    |                          |
| <b>Variable Explicativa:</b>                   | <b>Auxina</b>        |                    |                          |
| <b>Número de Casos:</b>                        | <b>105</b>           |                    |                          |
| <b>Método: Dunn al 95.0%</b>                   |                      |                    |                          |
| -----  |                      |                    |                          |
| <b>Numero Raices</b>                           | <b>N</b>             | <b>Rango Medio</b> | <b>Grupos Homogéneos</b> |
| -----  |                      |                    |                          |
| CONTROL  | 21                   | 41.6905            | X                        |
| AIB 300  | 21                   | 43.3095            | X                        |
| AIB 200  | 21                   | 47.1429            | X X                      |
| ANA 300  | 21                   | 64.5000            | X X                      |
| ANA 200  | 21                   | 68.3571            | X                        |
| -----  |                      |                    |                          |
| <b>Contraste</b>                               | <b>Diferencia</b>    | <b>+/- Limite</b>  |                          |
| -----  |                      |                    |                          |
| AIB 300 VS AIB 200                             | 3.8333               | 24.3065            |                          |
| ANA 200 VS AIB 200                             | -21.2143             | 24.3065            |                          |
| ANA 300 VS AIB 200                             | -17.3571             | 24.3065            |                          |
| CONTROL VS AIB 200                             | 5.4524               | 24.3065            |                          |
| ANA 200 VS AIB 300                             | *-25.0476            | *24.3065           |                          |
| ANA 300 VS AIB 300                             | -21.1905             | 24.3065            |                          |
| CONTROL VS AIB 300                             | 1.6190               | 24.3065            |                          |
| ANA 300 VS ANA 200                             | 3.8571               | 24.3065            |                          |
| CONTROL VS ANA 200                             | *26.6667             | *24.3065           |                          |
| CONTROL VS ANA 300                             | 22.8095              | 24.3065            |                          |
| -----  |                      |                    |                          |
| * Diferencia estadísticamente significativa.   |                      |                    |                          |

**VARIEDAD LEGACY:**

Anova de kruskal- Wallis para la variable número de raíces por auxina.

| Kruskal-Wallis  |                  |                   |             |
|---|------------------|-------------------|-------------|
| Variable Respuesta:   | Número de Raíces |                   |             |
| Variable Explicativa:                                       | Auxina           |                   |             |
| Número de Casos:  | 105              |                   |             |
| -----   |                  |                   |             |
| Grupos  | n                | Suma de Rangos Rm | Rango Medio |
| -----   |                  |                   |             |
| CONTROL   | 21               | 919.5000          | 43.7857     |
| ANA 200   | 21               | 1170.5000         | 55.7381     |
| ANA 300   | 21               | 1170.5000         | 55.7381     |
| AIB 200   | 21               | 1255.5000         | 59.7857     |
| AIB 300   | 21               | 1049.0000         | 49.9524     |
| -----   |                  |                   |             |
| Estadístico de Kruskal-Wallis (sin corrección por empates): |                  | 3.5147            |             |
| Estadístico de Kruskal-Wallis (con corrección por empates): |                  | 5.4331            |             |
| Grados de Libertad:   |                  | 4                 |             |
| p-valor:  |                  | 0.2457            |             |

- No se detectaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) entre los diferentes tratamientos.

## COMPARACIONES MÚLTIPLES Y GRUPOS HOMOGÉNEOS.

| Kruskal-Wallis, Comparaciones Múltiples      |                  |             |                   |
|--|------------------|-------------|-------------------|
| Variable Respuesta:                          | Número de Raíces |             |                   |
| Variable Explicativa:                        | Auxina           |             |                   |
| Número de Casos:                             | 105              |             |                   |
| Método: Dunn al 95.0%                        |                  |             |                   |
| -----  |                  |             |                   |
| Número de Raíces                             | N                | Rango Medio | Grupos Homogéneos |
| -----  |                  |             |                   |
| CONTROL                                      | 21               | 43.7857     | X                 |
| AIB 300                                      | 21               | 49.9524     | X                 |
| ANA 200                                      | 21               | 55.7381     | X                 |
| ANA 300                                      | 21               | 55.7381     | X                 |
| AIB 200                                      | 21               | 59.7857     | X                 |
| -----  |                  |             |                   |
| Contraste                                    | Diferencia       | +/- Límite  |                   |
| -----  |                  |             |                   |
| AIB 300 VS AIB 200                           | 9.8333           | 21.2191     |                   |
| ANA 200 VS AIB 200                           | 4.0476           | 21.2191     |                   |
| ANA 300 VS AIB 200                           | 4.0476           | 21.2191     |                   |
| CONTROL VS AIB 200                           | 16.0000          | 21.2191     |                   |
| ANA 200 VS AIB 300                           | -5.7857          | 21.2191     |                   |
| ANA 300 VS AIB 300                           | -5.7857          | 21.2191     |                   |
| CONTROL VS AIB 300                           | 6.1667           | 21.2191     |                   |
| ANA 300 VS ANA 200                           | 0.0000           | 21.2191     |                   |
| CONTROL VS ANA 200                           | 11.9524          | 21.2191     |                   |
| CONTROL VS ANA 300                           | 11.9524          | 21.2191     |                   |
| -----  |                  |             |                   |
| * Diferencia estadísticamente significativa. |                  |             |                   |

**Anexo N° 2.** Análisis de varianza y test de comparaciones múltiples de Tukey, para la variable Longitud de raíces.

### PRUEBA DE NORMALIDAD

| Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra |                   |                    |
|---|-------------------|--------------------|
|   |                   | Longitud de Raíces |
| N   |                   | 81                 |
| Parámetros normales <sup>a,b</sup>            | Media             | 18,57              |
|   | Desviación típica | 10,575             |
| Diferencias más extremas                      | Absoluta          | ,089               |
|   | Positiva          | ,089               |
|   | Negativa          | -,084              |
| Z de Kolmogorov-Smirnov                       |                   | ,800               |
| Sig. asintót. (bilateral)                     |                   | ,544               |

a. La distribución de contraste es la Normal.

b. Se han calculado a partir de los datos.

- Se cumple con el supuesto de Normalidad ( $p > 0,05$ )

**VARIEDAD BRIGITTA:****TEST DE HOMOGENEIDAD DE VARIANZAS**

| <b>Prueba de homogeneidad de varianzas<sup>a</sup></b> |     |     |      |
|--|-----|-----|------|
| LONGITUD   |     |     |      |
| Estadístico de Levene                                  | gl1 | gl2 | Sig. |
| 1,500  | 4   | 45  | ,218 |

a. Variedad = Brigitta

- Se cumple con el supuesto de homogeneidad de varianzas ( $p > 0,05$ ), por lo tanto se realizar el análisis de varianza.

**ANALISIS DE VARIANZA**

| <b>ANOVA<sup>a</sup></b> |                   |    |                  |      |      |
|--------------------------|-------------------|----|------------------|------|------|
| LONGITUD                 |                   |    |                  |      |      |
|                          | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F    | Sig. |
| Inter-grupos             | 396,691           | 4  | 99,173           | ,816 | ,522 |
| Intra-grupos             | 5472,129          | 45 | 121,603          |      |      |
| Total                    | 5868,820          | 49 |                  |      |      |

a. Variedad = Brigitta

- No existen diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) entre tratamientos para la variable Longitud de raíces (mm).

### COMPARACIONES MÚLTIPLES (TUKEY).

| Comparaciones múltiples        |            |                            |              |         |                               |                 |         |
|--------------------------------|------------|----------------------------|--------------|---------|-------------------------------|-----------------|---------|
| Variable dependiente: LONGITUD |            |                            |              |         |                               |                 |         |
| (I) AUXINA                     | (J) AUXINA | Diferencia de medias (I-J) | Error típico | Sig.    | Intervalo de confianza al 95% |                 |         |
|                                |            |                            |              |         | Límite inferior               | Límite superior |         |
| HSD de Tukey                   | CONTROL    | ANA 200                    | 8,4000       | 5,69451 | ,584                          | -7,7807         | 24,5807 |
|                                |            | ANA 300                    | 2,7571       | 5,74513 | ,989                          | -13,5673        | 19,0816 |
|                                |            | AIB 200                    | 6,7333       | 6,15077 | ,808                          | -10,7438        | 24,2104 |
|                                |            | AIB 300                    | 5,9714       | 6,45697 | ,886                          | -12,3757        | 24,3186 |
|                                | ANA 200    | CONTROL                    | -8,4000      | 5,69451 | ,584                          | -24,5807        | 7,7807  |
|                                |            | ANA 300                    | -5,6429      | 4,09790 | ,645                          | -17,2868        | 6,0011  |
|                                |            | AIB 200                    | -1,6667      | 4,64955 | ,996                          | -14,8781        | 11,5448 |
|                                |            | AIB 300                    | -2,4286      | 5,04764 | ,989                          | -16,7712        | 11,9141 |
|                                | ANA 300    | CONTROL                    | -2,7571      | 5,74513 | ,989                          | -19,0816        | 13,5673 |
|                                |            | ANA 200                    | 5,6429       | 4,09790 | ,645                          | -6,0011         | 17,2868 |
|                                |            | AIB 200                    | 3,9762       | 4,71141 | ,915                          | -9,4110         | 17,3634 |
|                                |            | AIB 300                    | 3,2143       | 5,10468 | ,969                          | -11,2904        | 17,7190 |
|                                | AIB 200    | CONTROL                    | -6,7333      | 6,15077 | ,808                          | -24,2104        | 10,7438 |
|                                |            | ANA 200                    | 1,6667       | 4,64955 | ,996                          | -11,5448        | 14,8781 |
|                                |            | ANA 300                    | -3,9762      | 4,71141 | ,915                          | -17,3634        | 9,4110  |
|                                |            | AIB 300                    | -,7619       | 5,55727 | 1,000                         | -16,5526        | 15,0288 |
|                                | AIB 300    | CONTROL                    | -5,9714      | 6,45697 | ,886                          | -24,3186        | 12,3757 |
|                                |            | ANA 200                    | 2,4286       | 5,04764 | ,989                          | -11,9141        | 16,7712 |
|                                |            | ANA 300                    | -3,2143      | 5,10468 | ,969                          | -17,7190        | 11,2904 |
|                                |            | AIB 200                    | ,7619        | 5,55727 | 1,000                         | -15,0288        | 16,5526 |

a. Variedad = Brigitta

**SUBCONJUNTOS HOMOGÉNEOS PARA LA VARIABLE LONGITUD  
DE RAÍCES (mm), SEGÚN COMPARACIONES MÚLTIPLES DE TUKEY.**

| <b>LONGITUD</b>             |    |                                |
|-----------------------------|----|--------------------------------|
| HSD de Tukey <sup>a,b</sup> |    |                                |
| AUXINA                      | N  | Subconjunto<br>para alfa = .05 |
|                             |    | 1                              |
| ANA 200                     | 15 | 17,0000                        |
| AIB 200                     | 9  | 18,6667                        |
| AIB 300                     | 7  | 19,4286                        |
| ANA 300                     | 14 | 22,6429                        |
| CONTROL                     | 5  | 25,4000                        |
| Sig.                        |    | ,527                           |

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 8,445.

b. Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

c. Variedad = Brigitta.

**VARIEDAD LEGACY:****TEST DE HOMOGENEIDAD DE VARIANZAS**

| Prueba de homogeneidad de varianzas <sup>a</sup> |     |     |      |
|--|-----|-----|------|
| LONGITUD   |     |     |      |
| Estadístico de Levene                            | gl1 | gl2 | Sig. |
| 1,574  | 4   | 26  | ,211 |

a. Variedad = Legacy

- Se cumple el supuesto de homogeneidad de varianza ( $p > 0,05$ ).

**ANÁLISIS DE VARIANZA**

| ANOVA <sup>a</sup> |                   |    |                  |       |      |
|--------------------|-------------------|----|------------------|-------|------|
| LONGITUD           |                   |    |                  |       |      |
|                    | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F     | Sig. |
| Inter-grupos       | 392,251           | 4  | 98,063           | 1,065 | ,394 |
| Intra-grupos       | 2393,943          | 26 | 92,075           |       |      |
| Total              | 2786,194          | 30 |                  |       |      |

a. Variedad = Legacy

- No existen diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ) para la variable longitud de raíces.

### COMPARACIONES MÚLTIPLES (TUKEY).

| Comparaciones múltiples        |            |            |                            |              |          |                               |                 |
|--------------------------------|------------|------------|----------------------------|--------------|----------|-------------------------------|-----------------|
| Variable dependiente: LONGITUD |            |            |                            |              |          |                               |                 |
|                                | (I) AUXINA | (J) AUXINA | Diferencia de medias (I-J) | Error típico | Sig.     | Intervalo de confianza al 95% |                 |
|                                |            |            |                            |              |          | Límite inferior               | Límite superior |
| HSD de Tukey                   | CONTROL    | ANA 200    | -5,4286                    | 6,62156      | ,922     | -24,8195                      | 13,9624         |
|                                |            | ANA 300    | -8,7143                    | 6,62156      | ,684     | -28,1052                      | 10,6766         |
|                                |            | AIB 200    | -10,0000                   | 6,39704      | ,533     | -28,7334                      | 8,7334          |
|                                |            | AIB 300    | -12,8000                   | 7,00760      | ,381     | -33,3214                      | 7,7214          |
|                                | ANA 200    | CONTROL    | 5,4286                     | 6,62156      | ,922     | -13,9624                      | 24,8195         |
|                                |            | ANA 300    | -3,2857                    | 5,12904      | ,967     | -18,3059                      | 11,7344         |
|                                |            | AIB 200    | -4,5714                    | 4,83571      | ,876     | -18,7326                      | 9,5897          |
|                                |            | AIB 300    | -7,3714                    | 5,61858      | ,686     | -23,8252                      | 9,0823          |
|                                | ANA 300    | CONTROL    | 8,7143                     | 6,62156      | ,684     | -10,6766                      | 28,1052         |
|                                |            | ANA 200    | 3,2857                     | 5,12904      | ,967     | -11,7344                      | 18,3059         |
|                                |            | AIB 200    | -1,2857                    | 4,83571      | ,999     | -15,4468                      | 12,8754         |
|                                |            | AIB 300    | -4,0857                    | 5,61858      | ,948     | -20,5395                      | 12,3680         |
|                                | AIB 200    | CONTROL    | 10,0000                    | 6,39704      | ,533     | -8,7334                       | 28,7334         |
|                                |            | ANA 200    | 4,5714                     | 4,83571      | ,876     | -9,5897                       | 18,7326         |
|                                |            | ANA 300    | 1,2857                     | 4,83571      | ,999     | -12,8754                      | 15,4468         |
|                                |            | AIB 300    | -2,8000                    | 5,35215      | ,984     | -18,4735                      | 12,8735         |
| AIB 300                        | CONTROL    | 12,8000    | 7,00760                    | ,381         | -7,7214  | 33,3214                       |                 |
|                                | ANA 200    | 7,3714     | 5,61858                    | ,686         | -9,0823  | 23,8252                       |                 |
|                                | ANA 300    | 4,0857     | 5,61858                    | ,948         | -12,3680 | 20,5395                       |                 |
|                                | AIB 200    | 2,8000     | 5,35215                    | ,984         | -12,8735 | 18,4735                       |                 |

a. Variedad = Legacy

## SUBCONJUNTOS HOMOGÉNEOS SEGÚN COMPARACIONES MÚLTIPLES DE TUKEY.

| <b>LONGITUD</b>             |   |                                |
|-----------------------------|---|--------------------------------|
| HSD de Tukey <sup>a,b</sup> |   |                                |
|                             |   | Subconjunto<br>para alfa = .05 |
| AUXINA                      | N | 1                              |
| CONTROL                     | 3 | 8,0000                         |
| ANA 200                     | 7 | 13,4286                        |
| ANA 300                     | 7 | 16,7143                        |
| AIB 200                     | 9 | 18,0000                        |
| AIB 300                     | 5 | 20,8000                        |
| Sig.                        |   | ,216                           |

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 5,375.

b. Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

c. Variedad = Legacy