

## Crecimiento de brotes de *Vaccinium corymbosum* en medios de cultivo con diferentes sales inorgánicas y pH

## Growth of *Vaccinium corymbosum* shoots in culture media with different inorganic salts and pH

Santiago-Pablo, E. Q.<sup>1</sup> , Enríquez-del Valle, J. R.<sup>1</sup> , Rocha-Granados, M. C.<sup>2</sup> ,  
Velasco-Velasco, V. A.<sup>1</sup> , Rodríguez-Ortiz, G.<sup>1</sup> .

<sup>1</sup> Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca. Ex hacienda de Nazareno, Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca. C.P. 71233, Oaxaca, México.

<sup>2</sup> Professor-researcher at the División de Estudios de Posgrado e Investigación. Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca. Ex hacienda de Nazareno, Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca. C.P. 71233, Oaxaca, México.

<sup>3</sup> Professor-researcher at the Facultad de Agrobiología "Presidente Juárez" of the Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Av. Lázaro Cárdenas Esq. Berlín S/N Uruapan, Michoacán, México.

### RESUMEN

Se evaluó la proliferación *in vitro* de brotes de *Vaccinium corymbosum* var. Biloxi, en medios de cultivo que variaron en sales inorgánicas y niveles de pH. Segmentos de tallo de 2 cm de longitud que solo tenían yemas axilares, y otros segmentos tenían ápice y yemas axilares, se establecieron en medios de cultivo con sales inorgánicas WPM50 % (Woody Plant Medium), MS50 % (Murashige y Skoog) y la combinación MS50 %-WPM50 % a diferentes niveles de pH (4.5, 5.0 y 5.5), y contenían 25 g L<sup>-1</sup> de sacarosa, 100 mg L<sup>-1</sup> de myo-inositol, 0.4 mg L<sup>-1</sup> de tiamina-HCl, 2 mg L<sup>-1</sup> 2iP, 0.5 mg L<sup>-1</sup> de piridoxina, 0.5 mg L<sup>-1</sup> de ácido nicotínico, 2 mg L<sup>-1</sup> de glicina, 5.7 g L<sup>-1</sup> de agar. Se evaluaron las variables longitud de brote, número de hojas y número de brotes a los 40, 80 y 120 días de incubación. El experimento se estableció de acuerdo con un diseño completamente aleatorio, con arreglo factorial 3×3×2. Los segmentos de tallo que se establecieron en medios de cultivo con sales inorgánicas MS50 %-WPM50 % y con niveles de pH 4.5 o 5.0, desarrollaron brotes axilares que fueron mayores en tamaño (5.5 y 5.8 cm) y número de hojas (11.5 y 11.8).

**PALABRAS CLAVE:** Arándano, micropropagación, sales inorgánicas MS, sales inorgánicas WPM.



Please cite this article as/Como citar este artículo: Santiago-Pablo, E. Q., Enríquez-del Valle, J. R., Rocha-Granados, M. C., Velasco-Velasco, V. A., Rodríguez-Ortiz, G. (2025). Growth of *Vaccinium corymbosum* shoots in culture media with different inorganic salts and pH. *Revista Bio Ciencias*, 12, e1669. <https://doi.org/10.15741/revbio.12.e1669>

#### Article Info/Información del artículo

Received/Recibido: May 14<sup>th</sup> 2024.

Accepted/Aceptado: December 29<sup>th</sup> 2024.

Available on line/Publicado: March 04<sup>th</sup> 2025.

#### \*Corresponding Author:

José Raymundo Enríquez-del Valle. Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca. Ex hacienda de Nazareno, Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca. C.P. 71233, Oaxaca, México. Teléfono: (951) 174 0081.

E-mail: [jose.ev@voaxaca.tecnm.mx](mailto:jose.ev@voaxaca.tecnm.mx)

---

## ABSTRACT

---

*In vitro* shoot proliferation of *Vaccinium corymbosum* var. Biloxi was evaluated in culture media that varied in inorganic salts and pH levels. Stem segments 2 cm long that had only axillary buds, and other segments had apex and axillary buds, were established on culture media containing inorganic salts WPM50 % (Woody Plant Medium), MS50 % (Murashige and Skoog) and the combination MS50 %-WPM50 % at different pH levels (4.5, 5.0, and 5.5), and contained 25 g L<sup>-1</sup> sucrose, 100 mg L<sup>-1</sup> myo-inositol, 0.4 mg L<sup>-1</sup> thiamine-HCL, 2 mg L<sup>-1</sup> 2iP, 0.5 mg L<sup>-1</sup> pyridoxine, 0.5 mg L<sup>-1</sup> nicotinic acid, 2 mg L<sup>-1</sup> glycine, 5.7 g L<sup>-1</sup> agar. The variables shoot length, number of leaves, and number of shoots were evaluated at 40, 80, and 120 days of incubation. The experiment was set up in a completely randomized design, with a 3×3×2 factorial arrangement. Stem segments established in culture media with MS50 %-WPM50 % inorganic salts and pH levels 4.5 or 5.0, developed axillary shoots that were larger (5.5 and 5.8 cm) and number of leaves (11.5 and 11.8).

---

**KEY WORDS:** Blueberry, micropropagation, MS inorganic salts, WPM inorganic salts.

---

## Introducción

El cultivo de arándano (*Vaccinium* sp.) ha adquirido importancia a nivel mundial debido a su valor cultural, nutricional y económico (Hine-Gómez & Abdelnour-Esquivel, 2013; Chen *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2019; Georgieva & Kondakova, 2021). Los principales países productores a nivel mundial son Estados Unidos, Canadá, Chile, Perú y España (Zárate *et al.*, 2017; USDA, 2021). México ocupa el sexto lugar en producción de arándano, en una superficie de 11,400 hectáreas, y durante el año 2021 se produjeron 66,482 t. Las entidades federativas con mayor producción son Jalisco, Michoacán y Sinaloa (SIAP, 2022). Aunque no existen registros de la producción en Oaxaca, hay regiones que presentan condiciones edafológicas y climáticas apropiadas para su cultivo. Para asegurar su éxito productivo es necesario contar con productores locales de material vegetal que permitan establecer huertos comerciales con plantas que posean calidad genética, morfológica, fisiológica y fitosanitaria, dicho material se produce utilizando la técnica de cultivos de tejidos vegetales que permite producir gran número de plántulas genéticamente uniformes y libre de patógenos. Para lo cual, es indispensable generar un protocolo de propagación vegetal masivo a partir de plantas madre u orteto de variedades exitosas en Oaxaca.

Los factores que influyen en el crecimiento y desarrollo *in vitro* de un explante son: el genotipo, condición sanitaria y fisiológica de la planta orteto, la composición del medio de cultivo y el ambiente de incubación (Greenway *et al.*, 2012; Bhojwani & Dantu, 2013). Los medios de cultivo

están compuestos por agua, carbohidratos, reguladores de crecimiento, vitaminas y nutrimentos minerales esenciales específicos para cada especie vegetal y etapa de propagación (George & Klerk, 2008; Greenway *et al.*, 2012). La disponibilidad de los elementos esenciales es fundamental y está determinada por el pH y el potencial osmótico del medio de cultivo que resulta de la fuente, concentración y la concentración iónica total del medio de cultivo (Bonga & Durzan, 1987; Morard & Henry, 1998; Molinos-da Silva *et al.*, 2004). El medio de cultivo para plantas leñosas Woody Plant Medium, WPM (Lloyd & McCown, 1980; Wolfe *et al.*, 1983) tiene baja concentración de iones ( $42.39 \text{ mM L}^{-1}$ ), y es de las formulaciones más utilizadas en la propagación *in vitro* de arándano. El medio de cultivo MS (Murashige & Skoog, 1962) cuya concentración de iones es de  $94.25 \text{ mM L}^{-1}$ , fue diseñado para cultivo de tejidos de tabaco (*Nicotiana tabacum* L), se usa frecuentemente porque ha demostrado ser eficiente para la proliferación celular, morfogénesis y multiplicación de propágulos de diferentes especies (George *et al.*, 2008; Martínez-Villegas *et al.*, 2015), *Agave angustifolia* Haw, *A. potatorum* Zucc, *A. fourcroydes* Lem, *A. tequilana* Weber, *A. grijalvensis* B. Ullrich, *A. americana* var. *oaxacensis* Gentry (Enríquez-del Valle *et al.*, 2018), *Hylocereus monacanthus* (Lem) Britton & Rose (Montiel-Frausto *et al.*, 2016), *Laelia halbingeriana* Salazar & Soto Arenas (García-González *et al.*, 2020). El arándano es considerado una planta calcífuga, ya que el nivel óptimo de crecimiento *in vitro* de brotes de arándano oscila con pH de 4.5 a 5.5 (Retamales & Hancock, 2012), mientras que para el cultivo *in vitro* de otras especies como: *Beaucarnea inermis* (S. Watson) Rose, el pH del medio de cultivo es de 5.7 (Guillén *et al.*, 2015), y para *Persea americana* Mill (Ibarra-López *et al.*, 2016), *Agave potatorum* Zucc (Enríquez-del Valle *et al.*, 2016), *Echinocactus platyacanthus* Link & Otto (López-Escamilla *et al.*, 2016), *Myrmecophila grandiflora* Walter Hood Fitch (Chávez-Cruz *et al.*, 2022), *Malus domestica* Borkh (Cabral-Miramontes *et al.*, 2022), se usan medios de cultivo con pH de 5.7 a 6.0. Por lo anterior, el presente estudio tuvo como objetivo evaluar el crecimiento *in vitro* de brotes axilares de *Vaccinium corymbosum* var. Biloxi, establecidos en medios de cultivo que variaron en formulación de sales inorgánicas MS50 %, WPM50 % y la combinación MS50 %-WPM50 %, con tres valores de pH (4.5, 5.0 y 5.5).

## Material y Métodos

### Material vegetal

El presente estudio se realizó durante 2022-2023 en el Laboratorio de cultivos de tejidos vegetales, del Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca, ubicado en Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca, México. Plantas micropropagadas de arándano *Vaccinium corymbosum*, var. Biloxi fueron adquiridas a la empresa BIOTEC MARPA SPR DE RL DE CV®, en el municipio de Ziracuaretiro, Michoacán. Las plantas se establecieron en macetas de polietileno negro de  $30.8 \text{ dm}^3$ , en un sustrato que fue una mezcla de turba 35 %, fibra de coco 35 % y perlita 30 %; se mantuvieron bajo sombra con malla al 35 %, en donde recibieron riegos con regadera manual y fertirriego una vez por semana con solución universal Steiner (1984).

## Establecimiento de cultivos asépticos

Para el establecimiento de cultivos *in vitro*, se preparó medio de cultivo con una mezcla de sales minerales MS (Murashige & Skoog, 1962) y WPM (Lloyd & McCown, 1980) cada uno al 50 % (Tabla 1) (Bonga & Durzan, 1987), se complementó con 25 g L<sup>-1</sup> de sacarosa, 1.5 mg L<sup>-1</sup> de 2iP, 100 mg L<sup>-1</sup> de myo-inositol, piridoxina 0.5 mg L<sup>-1</sup>, ácido nicotínico 0.5 mg L<sup>-1</sup>, glicina 2 mg L<sup>-1</sup>. El pH del medio se ajustó a 5, con HCl o NaOH 1 N, antes de agregar 5.7 g L<sup>-1</sup> de agar, que fue disuelto con calor y agitación y se distribuyeron 20 mL en cada frasco de vidrio de 145 cm<sup>3</sup>, y cada frasco se cerró con una tapa de polipropileno. Los frascos con medio de cultivo se esterilizaron en autoclave a 1.2 kg cm<sup>-2</sup> de presión a 120 °C durante 17 min.

Para el establecimiento de cultivos asépticos *in vitro*, de las plantas en vivero se seleccionaron ramas vigorosas y sanas de las que se cortaron varetas de 10 cm de longitud, con ápice y yemas axilares; éstas se colocaron en bolsas de polietileno para su transporte al laboratorio, en donde se cortaron en segmentos de 5 cm de longitud, se colocaron en un recipiente de vidrio de 9 cm de altura y 7 cm de diámetro, para someterlas a desinfección superficial que consistió en lavado en agua con 0.5 % p/v detergente, y se enjuagaron con agua potable; posteriormente se sumergieron durante 15 min en solución al 0.3 % de hipoclorito de sodio, seguido de tres enjuagues con agua esterilizada. Este último paso se realizó en la campana de aire filtrado de flujo laminar horizontal. Los segmentos de tallo con yemas axilares se colocaron en cajas Petri de vidrio 10×100 mm, esterilizadas, y se cortaron segmentos de 3 cm, con una o dos yemas axilares, para establecer dos explantes por frasco de cultivo de 145 cm<sup>3</sup> que contenían 20 mL de medio de cultivo. Los frascos se taparon y sellaron y se colocaron en el área de incubación por 60 días en un intervalo de temperatura de 15-28 °C, e iluminación LED 35 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, en fotoperiodos de 16/8 h luz/oscuridad.

**Tabla 1. Composición mineral de tres soluciones nutritivas utilizadas en el cultivo *in vitro* de arándano.**

Ion	MS	WPM	MS-WPM	Ion	MS	WPM	MS-WPM
	50 %	50 %	50 %		50 %	50 %	50 %
Iones mE L <sup>-1</sup>				Iones mE L <sup>-1</sup>			
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	10.3	2.4	12.7	MoO <sub>4</sub> <sup>=</sup>	0.51	0.51	1.03
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	19.7	4.8	24.5	Fe EDTA <sup>=</sup>	0.05	0.05	0.11
PO <sub>4</sub> <sup>=</sup>	0.6	0.6	1.2	Cl <sup>-</sup>	3	0.65	3.65
SO <sub>4</sub> <sup>=</sup>	0.8	3.7	4.6	Na <sup>++</sup>	0.11	0.11	0.22
K <sup>+</sup>	10.0	6.3	16.3	BO <sub>3</sub> <sup>=</sup>	0.05	0.05	0.1
Ca <sup>++</sup>	1.4	1.5	2.9	Mn <sup>++</sup>	0.06	0.06	0.13
Mg <sup>++</sup>	0.7	0.7	1.5	Cu <sup>++</sup>	0.05	0.05	0.1

## Continuación

**Tabla 1. Composición mineral de tres soluciones nutritivas utilizadas en el cultivo *in vitro* de arándano.**

Ion	MS	WPM	MS-WPM	Ion	MS	WPM	MS-WPM 50 %
	50 %	50 %	50 %		50 %	50 %	50 %
Iones mE L <sup>-1</sup>				Iones mE L <sup>-1</sup>			
				Zn <sup>++</sup>	0.01	0.01	0.02
				Co <sup>++</sup>	0.05	---	0.05
				I <sup>-</sup>	2.5	---	2.5
				Ni <sup>++</sup>	---	---	---
Total N	30.005	7.29	37.295				
Total					47.125	21.195	68.32

Fuente: Bonga y Durzan, 1987.

### Fase experimental

Los cultivos asépticos *in vitro* de brotes que desarrollaron a partir de yemas axilares se utilizaron para establecer el experimento. Se prepararon nueve variantes de medios de cultivo (CM) que contenían: 1) 25 g L<sup>-1</sup> de sacarosa, 100 mg L<sup>-1</sup> de myo-inositol, 0.4 mg L<sup>-1</sup> de tiamina-HCl, 2 mg L<sup>-1</sup> 2iP, 0.5 mg L<sup>-1</sup> de piridoxina, 0.5 mg L<sup>-1</sup> de ácido nicotínico, 2 mg L<sup>-1</sup> de glicina. 2) Alguna formulación de sales minerales, ya sea MS50 % o la formulación WPM50 %, o la combinación de sales minerales MS50 %-WPM50 %. El volumen total de cada variante de sales minerales se dividió en tres para ajustarlos a diferentes niveles de pH (4.5, 5.0 y 5.5), se agregaron 5.7 g L<sup>-1</sup> de agar, que se disolvió con calor y agitación, y se distribuyeron 20 mL de medio de cultivo a cada frasco de vidrio de 145 cm<sup>3</sup>, se colocó la tapa de polipropileno y se esterizaron en autoclave durante 17 min a 120 °C y 1.2 kg cm<sup>-2</sup> de presión. En condiciones asépticas proporcionadas por la campana de aire filtrado de flujo laminar horizontal, con el uso de pinzas de disección y bisturí esterilizadas, los brotes se extrajeron del recipiente de establecimiento de cultivos asépticos y colocaron en cajas Petri de 10x100 mm, de vidrio esterilizadas, para cortarlos en segmentos de 2 cm. Algunos segmentos de tallo tenían solo yemas axilares, mientras que otros segmentos tenían el ápice y yemas axilares. Se establecieron dos segmentos de tallo en cada frasco, con alguna de las nueve variantes de medio de cultivo para promover el desarrollo de brotes. Uno de los segmentos tenía solo yemas axilares y el otro segmento con el ápice y yemas axilares. Los segmentos de tallo en posición vertical y con el tercio inferior insertado en el medio de cultivo gelificado. Después de establecer los segmentos de tallo en el medio de cultivo, se colocó nuevamente la tapa y se selló con polietileno adherente, para entonces incubarlos durante 120 días, en condiciones de 15-28 °C, e iluminación LED 35 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, en fotoperiodos de 16/8 h luz/oscuridad.

## Manejo y análisis de datos

El experimento se estableció de acuerdo con un diseño completamente aleatorio, con arreglo factorial  $3 \times 3 \times 2$ , tres niveles del factor sales minerales (MS50 %, WPM50 % y la combinación MS50 %-WPM50 %), tres niveles del factor pH (4.5, 5.0 y 5.5) y dos niveles del factor tipo de segmento de tallo (axilar o apical), por lo que se tuvieron 18 tratamientos. La unidad experimental fue un segmento de tallo, y se tuvieron ocho repeticiones por tratamiento.

### Variables que se evaluaron

Cuarenta días después del establecimiento del experimento se realizó la primera medición, y posteriormente a los 80 y 120 días, en el periodo noviembre 2022 a enero 2023, en que se cuantificó: longitud del brote (cm), obtenida con una regla graduada; número de hojas y número de brotes. A los datos se les verificaron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas de los errores mediante las pruebas de Shapiro Wilks y Bartlett ( $\alpha \leq 0.05$ ), las variables que no cumplieron estos supuestos se transformaron a  $(x+1)^{0.5}$ . Los datos de variables morfológicas y de crecimiento se sometieron a análisis de varianza y comparación de medias (Duncan, 0.05). Las rutinas de los análisis estadísticos se realizaron con el programa computacional Sistema de Análisis Estadístico SAS (SAS Institute, 2014).

## Resultados y Discusión

En la etapa de establecimiento de cultivos asépticos, el 40 % de los segmentos de tallo que se establecieron fueron asépticos y viables, los cuales desarrollaron brotes axilares que se usaron para la etapa de multiplicación de propágulos (Figura 1).

Los análisis de varianza mostraron que los tipos de sales inorgánicas en el medio de cultivo (CM), tuvieron efectos diferentes altamente significativos ( $p \leq 0.01$ ) en la longitud de brote a los 40, 80 y 120 días de incubación; efectos diferentes significativos ( $p \leq 0.05$ ) en el número de brotes a los 40 días; y a los 80 días mostró alta significancia ( $p \leq 0.01$ ). Los niveles del factor tipo de segmento de tallo tuvieron efectos diferentes altamente significativos ( $p \leq 0.01$ ) en el número de brotes a los 40, 80 y 120 días. La interacción CM  $\times$  pH mostró efectos altamente significativos en el número de hojas a los 40 días, y efectos significativos en la longitud de brote en las tres fechas, número de hojas a los 80 días y número de brotes a los 40 y 80 días (Tabla 2).



**Figura 1. Proceso de propagación *in vitro* de plantas de arándano.**

**a) Planta orteto, b) segmentos de tallo apicales y axilares, c) brotes axilares obtenidos *in vitro* colocados en caja petri para cortarlos en segmentos con yemas axilares, d) segmento de tallo cultivado *in vitro* con nuevos brotes axilares, establecidos en medio de cultivo para la multiplicación de propágulos.**

Los segmentos de tallo con yemas axilares y los segmentos con ápice y yemas axilares tenían 2 cm de tamaño cuando se establecieron en medios de cultivo con las sales minerales WPM50 %, o MS50 % o MS50 %-WPM50 %, y en el transcurso de 120 días desarrollaron brotes que tuvieron diferentes tamaños, número de hojas y de brotes. A los 120 días de incubación en los segmentos de tallo que se establecieron en medio de cultivo con las sales minerales MS50 %- WP50 % con pH 4.5 o 5.0 desarrollaron en promedio 1.4 y 1.3 brotes, de 5.5 y 5.8 cm de altura, con 11.5 y 11.8 hojas, respectivamente; magnitudes significativamente mayores (Duncan, 0.05) a los 0.8 nuevos brotes, de 1.6 cm de altura y con 7.8 hojas que desarrollaron a partir de los segmentos de tallo que se establecieron en medios de cultivo con sales inorgánicas WPM50 % con pH 5.5. Para el crecimiento de brotes de arándano, el tipo de sales inorgánicas y el nivel de pH fueron condiciones importantes para el desarrollo de brotes. La mejor condición para el desarrollo de brotes fue la mezcla de sales inorgánicas MS50 %-WPM50 % y valores de pH en el intervalo de 4.5 a 5.

**Tabla 2. Resumen de nueve análisis de varianza del desarrollo *in vitro* de brotes de *Vaccinium corymbosum* var. Biloxi a partir de segmentos de tallo axilares o apicales establecidos en medios de cultivo que variaron en tipo de sales minerales y pH.**

Variables	DF	Cuadrados medios							
		CM	pH	SS	CM ×pH	CM ×SS	pH×SS	CM ×pH×SS	Error
TSL40	17	1.91**	1.01*	0.44 <sup>ns</sup>	0.66*	0.14 <sup>ns</sup>	0.19 <sup>ns</sup>	0.08 <sup>ns</sup>	0.26
TSL80	17	2.58**	1.22 <sup>ns</sup>	0.56 <sup>ns</sup>	1.05*	0.19 <sup>ns</sup>	0.13 <sup>ns</sup>	0.10 <sup>ns</sup>	0.43
TSL120	17	4.10**	1.10 <sup>ns</sup>	0.29 <sup>ns</sup>	1.65*	0.40 <sup>ns</sup>	1.11 <sup>ns</sup>	0.62 <sup>ns</sup>	0.58
TNL40	17	0.33 <sup>ns</sup>	1.14 <sup>ns</sup>	2.89*	2.13**	0.34 <sup>ns</sup>	0.41 <sup>ns</sup>	0.70 <sup>ns</sup>	0.64
TNL80	17	1.08 <sup>ns</sup>	2.28 <sup>ns</sup>	1.33 <sup>ns</sup>	3.09*	0.40 <sup>ns</sup>	0.62 <sup>ns</sup>	0.90 <sup>ns</sup>	1.15
TNL120	17	1.72 <sup>ns</sup>	2.03 <sup>ns</sup>	0.41 <sup>ns</sup>	1.89 <sup>ns</sup>	0.93 <sup>ns</sup>	2.84 <sup>ns</sup>	1.20 <sup>ns</sup>	1.53
TSN40	17	0.70*	0.49 <sup>ns</sup>	25.92**	0.51*	0.47 <sup>ns</sup>	0.04 <sup>ns</sup>	0.20 <sup>ns</sup>	0.17
TSN80	17	1.21**	0.25 <sup>ns</sup>	16.26**	0.62*	0.81*	0.02 <sup>ns</sup>	0.25 <sup>ns</sup>	0.21
TSN120	17	0.21 <sup>ns</sup>	0.52 <sup>ns</sup>	9.16**	0.24 <sup>ns</sup>	0.59 <sup>ns</sup>	0.18 <sup>ns</sup>	0.31 <sup>ns</sup>	0.31

DF= grados de libertad; CM = medio de cultivo; pH= potencial de hidrogeno; SS= segmento de tallo; CMxpH, CMxSS, pHxSS, CMxpHxSS= interacciones; TSL= longitud de brote a los 40, 80 y 120 días (datos transformados); TNL= número de hojas a los 40, 80 y 120 días (datos transformados); TSN= número de brotes a los 40, 80 y 120 días (datos transformados). ns= valor de F no significativo ( $p > 0.05$ ); \*= valor de F significativo ( $p \leq 0.05$ ); \*\*= valor de F altamente significativo ( $p \leq 0.01$ ).

Los segmentos de tallo con el ápice mantuvieron su dominancia apical, ya que en pocos de estos segmentos ocurrió la brotación de yemas axilares, por lo que el brote principal continuó creciendo y solo desarrollaron en promedio 0.5 brotes axilares, mientras que en los segmentos de tallo que tenían solo yemas axilares, de 1 a 2 yemas brotaron, con un promedio 1.2 nuevos brotes. El tipo de segmento de tallo, apical o axilar, no determinó el nivel de crecimiento de los brotes, en las diversas condiciones de sales minerales y pH.

Cuando los datos se ordenaron en función del tipo de explanto que se estableció, aquellos segmentos de tallo que inicialmente tenían yemas axilares y los segmentos de tallo que tenían el ápice, cuándo habían transcurrido 40 días de incubación, mostraron respectivamente 1.3 y 0.3 nuevos brotes, con 7.5 y 6.1 hojas, que en cada caso fueron significativamente (Duncan, 0.05) diferentes. Los brotes tuvieron 2.5 y 2.2 cm de altura, no estadísticamente (Duncan, 0.05) diferentes. Cuando transcurrieron 120 días, los brotes que desarrollaron de estos explantos ya tenían 3.2 y 3.4 cm de altura con 9.1 y 9.3 hojas. Cuando los datos se ordenaron en función de las sales inorgánicas que se usaron en el medio de cultivo, a los 120 días de incubación, los



brotos que se establecieron en el medio de cultivo con la mezcla MS50 %-WPM 50 %, tuvieron en promedio 1.1 brotes, con el brote mayor de 4.7 cm de longitud, y 10.2 hojas totales (Tabla 3).

En los segmentos de tallo apical y axilar que se establecieron en medios de cultivo con la combinación de sales inorgánicas MS50 %-WPM50 % a nivel de pH 5.0 y 4.5 formaron brotes que tuvieron 3.6 y 3.8 cm a los 40 días, así como 8 y 6.4 cm a los 120 días, valores que son 4.3 y 3.5 veces las alturas de los brotes axilares que desarrollaron en segmentos de tallo apicales que estuvieron en el medio de cultivo WPM50 % con pH 5.5.

**Tabla 3. Características de los brotes *Vaccinium corymbosum* var. Biloxi cultivados *in vitro* a los 40, 80 y 120 días de incubación, en función de los niveles de los factores.**

Factor SS				
Var	Axilar	Apical	RCD	
SL40 (cm)	2.5±0.2 <sup>a</sup>	2.2±0.2 <sup>a</sup>	0.41	
SL80 (cm)	3.2±0.2 <sup>a</sup>	2.8±0.2 <sup>a</sup>	0.59	
SL120 (cm)	3.2±0.3 <sup>a</sup>	3.4±0.4 <sup>a</sup>	0.81	
NL40	7.5±0.4 <sup>a</sup>	6.1±0.4 <sup>b</sup>	1.08	
NL80	9.2±0.5 <sup>a</sup>	8.2±0.6 <sup>a</sup>	1.57	
NL120	9.1±0.7 <sup>a</sup>	9.3±0.7 <sup>a</sup>	2.08	
SN40	1.3±0.1 <sup>a</sup>	0.3±0.1 <sup>b</sup>	0.24	
SN80	1.3±0.1 <sup>a</sup>	0.4±0.1 <sup>b</sup>	0.27	
SN120	1.3±0.1 <sup>a</sup>	0.6±0.1 <sup>b</sup>	0.34	
Factor CM				
Var	WPM	MS	MS-WPM	RCD
SL40 (cm)	1.7±0.1 <sup>c</sup>	2.4±0.2 <sup>b</sup>	3.0±0.2 <sup>a</sup>	0.53
SL80 (cm)	2.1±0.2 <sup>b</sup>	3.2±0.3 <sup>a</sup>	3.7±0.3 <sup>a</sup>	0.76
SL120 (cm)	2.1±0.2 <sup>c</sup>	3.3±0.4 <sup>b</sup>	4.7±0.5 <sup>a</sup>	1.05
NL40	6.4±0.5 <sup>a</sup>	7.0±0.5 <sup>a</sup>	7.1±0.5 <sup>a</sup>	1.39
NL80	7.8±0.8 <sup>a</sup>	9.1±0.7 <sup>a</sup>	9.3±0.7 <sup>a</sup>	2.03
NL120	8.6±0.8 <sup>a</sup>	8.9±1.0 <sup>a</sup>	10.2±0.8 <sup>a</sup>	2.68
SN40	0.6±0.1 <sup>b</sup>	0.9±0.1 <sup>a</sup>	1.0±0.2 <sup>a</sup>	0.31
SN80	0.5±0.1 <sup>b</sup>	1.0±0.2 <sup>a</sup>	1.0±0.2 <sup>a</sup>	0.35
SN120	0.8±0.1 <sup>a</sup>	0.8±0.2 <sup>a</sup>	1.1±0.2 <sup>a</sup>	0.43

## Continuación

**Tabla 3. Características de los brotes *Vaccinium corymbosum* var. Biloxi cultivados *in vitro* a los 40, 80 y 120 días de incubación, en función de los niveles de los factores.**

Var	Factor pH			RCD
	5.5	5.0	4.5	
SL40 (cm)	2±0.2 <sup>b</sup>	2.5±0.2 <sup>ab</sup>	2.7±0.2 <sup>a</sup>	0.53
SL80 (cm)	2.59±0.3 <sup>a</sup>	3.2±0.3 <sup>a</sup>	3.3±0.3 <sup>a</sup>	0.76
SL120 (cm)	2.90±0.4 <sup>a</sup>	3.7±0.5 <sup>a</sup>	3.4±0.4 <sup>a</sup>	1.05
NL40	6.37±0.6 <sup>a</sup>	6.7±0.4 <sup>a</sup>	7.4±0.5 <sup>a</sup>	1.39
NL80	7.85±0.8 <sup>a</sup>	9.0±0.6 <sup>a</sup>	9.3±0.7 <sup>a</sup>	2.03
NL120	8.5±1.0 <sup>a</sup>	10.0±0.8 <sup>a</sup>	9.1±0.8 <sup>a</sup>	2.68
SN40	0.7±0.1 <sup>b</sup>	0.8±0.1 <sup>b</sup>	1.1±0.2 <sup>a</sup>	0.31
SN80	0.7±0.1 <sup>b</sup>	0.9±0.1 <sup>ab</sup>	1.0±0.2 <sup>a</sup>	0.35
SN120	0.7±0.1 <sup>b</sup>	0.9±0.2 <sup>ab</sup>	1.1±0.2 <sup>a</sup>	0.43

SS= segmento de tallo; CM = medio de cultivo; pH= nivel de pH; WPM= Woody Plant Medium (Lloyd y McCown, 1980); MS= Murashige y Skoog (Murashige y Skoog, 1962); MS-WPM= de sales inorgánicas MS50% y WPM50%; SL= longitud de brote a los 40, 80 y 120 días; NL= número de hojas a los 40, 80 y 120 días; SN= número de brotes a los 40, 80 y 120 días; RCD= Rango crítico de Duncan. Medias con la misma letra en las filas y los niveles del factor no son significativamente diferentes (Duncan,  $P \leq 0.05$ ); media ± error estándar.

A los 120 días de incubación, los brotes axilares que desarrollaron en los medios de cultivo MS50 %-WPM50 % pH 5.0 y MS50%-WPM50 % con pH 4.5 tuvieron en promedio 6.3 y 9.3 hojas a los 40 y 120 días de incubación, así como 12.6 y 10.5 hojas, respectivamente, cantidades que fueron 2.2 y 2.0 veces la cantidad de hojas que tuvieron los brotes apicales que desarrollaron en medios de cultivo con sales inorgánicas WPM50 % con pH 5.5.

A los 120 días de incubación, a partir de los segmentos de tallo con solo yemas axilares establecidos en medios de cultivo con la combinación de sales inorgánicas MS50 %-WPM50 % a pH 4.5, desarrollaron en promedio 2.2 brotes, cantidad que fue significativamente mayor a los 0.1 nuevos brotes que desarrollaron a partir de los segmentos apicales establecidos en medios de cultivo con sales inorgánicas WPM50% con pH 5.5 (Tabla 4).

Los resultados en el presente trabajo muestran la posibilidad de propagar *in vitro* arándano *Vaccinium corymbosum* var. Biloxi, a partir de segmentos de tallo que se obtuvieron de plantas orteto en condiciones de vivero. El crecimiento de los brotes en altura y su cantidad de hojas es importante, ya que en la base de cada hoja se tiene una yema axilar, y para propósitos de propagación, es posible obtener nuevos brotes que determinan un factor de incremento en cada ciclo de multiplicación de propágulos *in vitro*. Con base en lo anterior, se estima que, una vez

superada la primera etapa de establecimiento de cultivos asépticos, en cada ciclo de repicado, que se realizase en periodos de cada dos meses, cortando el material vegetal en segmentos de 2 cm de longitud conteniendo 3 hojas y yemas axilares en promedio, en el transcurso de un año se podrían tener cinco ciclos de multiplicación de propágulos, que después de un año se tendrían 283 plantas derivadas de cada segmento de tallo inicial.

Tetsumura *et al.* (2008) evaluaron cuatro genotipos de arándanos en medios de cultivo WPM, MS y la combinación MS-WPM, los resultados fueron similares a los obtenidos en el presente estudio, ya que se determinó que la combinación MS50 %-WPM50 % fue la mejor condición para el crecimiento de brotes en la etapa de multiplicación de propágulos. Así mismo Li *et al.* (2021) compararon los medios de cultivo WPM, DKW y LP, este último mostró un mejor efecto sobre la proliferación y crecimiento de brotes de *Vaccinium arboreum*. Por el contrario, Fan *et al.*, (2017) compararon los medios MS, WPM y Anderson en etapa de multiplicación y enraizamiento *in vitro*, el medio de cultivo Anderson mostró mayor eficacia en la inducción de brotes, este resultado coincide con Ruzi $\acute{c}$  *et al.* (2012), y está relacionado con la composición mineral del medio y su concentración iónica total (86.48 mEq L<sup>-1</sup>) (Bonga & Durzan, 1987).

**Tabla 4. Desarrollo de brotes de arándano en medios de cultivo con diferentes sales inorgánicas y pH.**

TRATAMIENTOS	VARIABLES						
	SS/iS/pH	SL40	SL120	NL40	NL120	SN40	SN120
AP/MS-WPM/5.0		3.6±1.4 <sup>ab</sup>	7.8±2.7 <sup>a</sup>	7.8±2.0 <sup>a</sup>	13.7±1.8 <sup>a</sup>	0.6±0.9 <sup>bcd</sup>	0.8±1.1 <sup>ab</sup>
AX/MS-WPM/4.5		3.8±1.3 <sup>a</sup>	6.4±1.2 <sup>ab</sup>	9.3±2.7 <sup>a</sup>	12.6±2.9 <sup>a</sup>	2.2±1.1 <sup>a</sup>	2.1±0.9 <sup>a</sup>
AP/MS-WPM/4.5		3.5±0.7 <sup>ab</sup>	4.6±1.6 <sup>abc</sup>	8.1±2.7 <sup>a</sup>	10.3±3.4 <sup>a</sup>	0.3±0.7 <sup>bcd</sup>	0.6±0.8 <sup>ab</sup>
AX/MS/5.5		2.6±1.4 <sup>ab</sup>	4.6±2.4 <sup>abc</sup>	7.6±2.9 <sup>a</sup>	11.3±6.2 <sup>a</sup>	1.2±0.4 <sup>abcd</sup>	1.0±0.6 <sup>ab</sup>
AX/MS-WPM/5.0		2.9±1.3 <sup>ab</sup>	4.4±2.9 <sup>abc</sup>	6.3±2.5 <sup>a</sup>	10.5±4.5 <sup>a</sup>	1.6±1.0 <sup>ab</sup>	1.6±1.2 <sup>ab</sup>
AP/MS/5.0		1.8±1.2 <sup>ab</sup>	3.9±2.5 <sup>abc</sup>	4.0±2.1 <sup>a</sup>	9.6±5.4 <sup>a</sup>	0.1±0.3 <sup>cd</sup>	0.6±0.8 <sup>ab</sup>
AP/MS/5.5		1.8±1.4 <sup>ab</sup>	3.7±3.3 <sup>abc</sup>	6.8±3.5 <sup>a</sup>	9.0±7.9 <sup>a</sup>	0.3±0.5 <sup>bcd</sup>	0.3±0.5 <sup>ab</sup>
AP/MS-WPM/5.5		1.7±1.5 <sup>ab</sup>	3.2±3.1 <sup>abc</sup>	4.0±3.1 <sup>a</sup>	7.1±4.9 <sup>a</sup>	0.1±0.3 <sup>cd</sup>	0.1±0.4 <sup>b</sup>
AP/MS/4.5		2.5±1.1 <sup>ab</sup>	3.0±1.3 <sup>abc</sup>	6.3±3.2 <sup>a</sup>	10.0±5.4 <sup>a</sup>	1.3±1.8 <sup>abc</sup>	1.0±1.5 <sup>ab</sup>
AP/WPM/5.0		1.7±0.8 <sup>ab</sup>	2.7±1.1 <sup>bc</sup>	7.2±3.1 <sup>a</sup>	11.1±4.6 <sup>a</sup>	0±0 <sup>d</sup>	0.1±0.4 <sup>b</sup>
AX/WPM/4.5		1.7±1.0 <sup>ab</sup>	2.5±1.4 <sup>bc</sup>	5.7±3.3 <sup>a</sup>	7.8±4.3 <sup>a</sup>	1.0±0.5 <sup>abcd</sup>	0.8±0.4 <sup>ab</sup>
AX/MS-WPM/5.5		2.4±1.6 <sup>ab</sup>	2.4±2.0 <sup>bc</sup>	6.7±4.3 <sup>a</sup>	7.8±6.5 <sup>a</sup>	1.1±0.6 <sup>abcd</sup>	1.0±0.8 <sup>ab</sup>
AX/MS/5.0		2.9±1.5 <sup>ab</sup>	2.3±2.3 <sup>bc</sup>	7.8±3.4 <sup>a</sup>	7.5±6.5 <sup>a</sup>	0.8±0.3 <sup>bcd</sup>	0.6±0.5 <sup>ab</sup>
AX/WPM/5.0		1.6±1.1 <sup>ab</sup>	2.0±1.5 <sup>bc</sup>	6.8±3.2 <sup>a</sup>	8.6±4.3 <sup>a</sup>	1.2±0.4 <sup>abcd</sup>	1.5±0.5 <sup>ab</sup>
AX/MS/4.5		2.7±0.9 <sup>ab</sup>	1.9±2.3 <sup>bc</sup>	9.3±3.0 <sup>a</sup>	5.6±6.8 <sup>a</sup>	1.5±0.7 <sup>ab</sup>	1.1±1.1 <sup>ab</sup>
AX/WPM/5.5		1.8±0.8 <sup>ab</sup>	1.9±0.9 <sup>c</sup>	7.6±2.8 <sup>a</sup>	9.5±3.9 <sup>a</sup>	1.2±0.4 <sup>abcd</sup>	1.3±0.5 <sup>ab</sup>
AP/WPM/4.5		1.5±0.9 <sup>b</sup>	1.8±1.4 <sup>c</sup>	5.2±3.0 <sup>a</sup>	8.0±4.6 <sup>a</sup>	0.1±0.3 <sup>cd</sup>	1.0±1.5 <sup>ab</sup>
AP/WPM/5.5		1.5±1.2 <sup>b</sup>	1.3±1.5 <sup>c</sup>	5.3±5.6 <sup>a</sup>	6.1±7.2 <sup>a</sup>	0±0 <sup>d</sup>	0.1±0.4 <sup>b</sup>
RCD		1.23-1.52	2.45-3.01	3.24-3.99	6.27-7.70	0.73-0.90	1.02-1.25

SL= longitud de brote (cm) a los 40 y 120 días; NL= número de hojas a los 40 y 120 días; SN= número de brotes a los 40 y 120 días. Trat= tratamiento; SS= segmento de tallo; AP= apical, AX= axilar; iS= sales inorgánicas; MS= Murashige y Skoog; WPM= Woody plant medium; pH (4.5, 5.0, 5.5). RCD= Rango crítico de Duncan. En cada columna, medias con la misma letra no son significativamente diferentes (Duncan, 0.05).

Por su parte, Wang *et al.* (2019) reportaron que el medio de cultivo de oliva (OM), complementado con 2.0 mg L<sup>-1</sup> de Zeatina (ZT); 2.0 mg L<sup>-1</sup> de ácido naftalenacético (NAA), y 0,05 mg-L<sup>-1</sup> de kinetina, (KT) aumentó el coeficiente de proliferación de brotes *in vitro* del arándano highbush en 60 días.

En el cultivo *in vitro* de arándano se tienen referencias del uso de diversas formulaciones de sales minerales (WPM; MS; W-M; B5; MO; White; Anderson; Driver; DKW y LP) con fines de propagación (Debnath, 2007; Tetsumura *et al.*, 2008; Ruzić *et al.*, 2012; Fan *et al.*, 2017; Chen *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2021), sin embargo en este estudio, se obtuvo el mayor crecimiento de brotes, ocurrió en los medios de cultivo con la mezcla MS50 %-WPM50 %, debido a la mayor cantidad de macro y micronutrientes minerales, el total de iones es 68.32 mEq L<sup>-1</sup>, cantidad que es 1.45 veces que el MS50 % (47.125 mEq L<sup>-1</sup>) y 3.22 veces que el WPM50 % (21.195 mEq L<sup>-1</sup>). Otra diferencia entre los medios utilizados fue que la formulación WPM no contiene los iones I<sup>-</sup> y Co<sup>++</sup> y tanto la formulación MS como WPM no presentan iones Ni<sup>++</sup>; Ramage & Williams (2002), señalan que los nutrientes minerales constituyen un componente importante de los medios de cultivo, pero a menudo se pasan por alto como elicitores morfogénicos.

Los brotes *in vitro* de *V. corymbosum* proliferaron en niveles de pH de 4.5-5.0 valor similar al obtenido por Li *et al.*, (2021) para *Vaccinium arboreum*. En tanto que para el cultivo *in vitro* de brotes de arándano (*V. corymbosum* y *V. virgatum*) variedades 'Berkeley', 'Bluecrop', 'Earliblue, y O'Neal', se menciona que el pH tiene efecto notable en la proliferación de brotes, ya que la mayor respuesta de multiplicación de propágulos se obtuvo en medio de cultivo con pH 5.0 (Ostrolucká *et al.*, 2004<sup>a</sup>), Li *et al.* (2021), señalan que conforme aumenta el pH del medio, la proliferación de brotes disminuye, además las hojas cambian de color, de verde a amarillento rojizo, debido a menor disponibilidad de nutrientes. El valor de pH es específico de cada genotipo (Ostrolucká *et al.*, 2010<sup>b</sup>).

## Conclusiones

A partir de segmentos de tallo con yemas axilares que se obtuvieron de plantas de arándano en vivero, fue posible establecer con 40 % de éxito cultivos asépticos *in vitro*, en los que desarrollaron brotes axilares. El medio de cultivo con sales inorgánicas MS50 %-WPM50 % y nivel de pH 4.5-5.0, proporcionó las mejores condiciones para el crecimiento de los brotes de arándano en la etapa de multiplicación de propágulos.

## Contribución de los autores

Conceptualización del trabajo, autor 2, autora 3; desarrollo de la metodología, autora 1; manejo de software, autor 5; validación experimental, autor 2, autor 4, autor 5; análisis de resultados, autora 1, autor 2, autor 5; Manejo de datos, autora 1, autor 2, autor 4, autor 5; escritura y preparación del manuscrito, autora 1, autor 2, autor 4, autor 5; redacción, revisión y edición,

autora 1, autor 2, autor 4; administrador de proyectos, autor 2; adquisición de fondos, autor 2.

Todos los autores de este manuscrito han leído y aceptado la versión publicada del mismo.

## Financiamiento

El presente trabajo fue financiado con recursos del Tecnológico Nacional de México, en la Convocatoria 2022, mediante el proyecto con clave: 13746.22-P.

## Agradecimientos

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCYT), por la beca otorgada para estudios de maestría en ciencias a la primera autora, con número de becaria: 1154187.

## Conflicto de interés

Los autores declaran no tener conflicto de interés.

## Referencias

- Bonga, J. M., & Durzan D. J. (1987). Cell and Tissue Culture in Forestry. Volumen 1: General Principles and Biotechnology. Springer-Science +Business Media. <https://doi.org/10.1007/978-94-017-0994-1>
- Bhojwani, S. S., & Dantu P. K. (2013). Plant Tissue Culture: An Introductory Text. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-81-322-1026-9>
- Cabral-Miramontes, J. P., Chávez-Simental J. A., Pulido-Díaz C., González-Portillo M., Goche-Télles J. R., & Barragán-Hernández V. M. (2022). Propagación in vitro de manzano a partir de embriones cigóticos maduros. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 13(4), 603–616. <https://doi.org/10.29312/remexca.v13i4.2164>
- Chávez-Cruz, I. L., Enríquez-del Valle J. R., Hernández-Santiago E., & Rodríguez-Ortiz G. (2022). Sales minerales y reguladores de crecimiento en medios de cultivo para desarrollo de *Myrmecophila grandiflora*. *Revista Mexicana de Agroecosistemas*, 9(S1), 108–116. <https://rmae.voaxaca.tecnm.mx/volumen-9-s-2/>
- Chen, H. Y., Liu J., Pan, C., Yu, J. W., & Wang, Q. C. (2018). In vitro regeneration of adventitious buds from leaf explants and their subsequent cryopreservation in highbush blueberry. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 134(2), 193–204. <https://doi.org/10.1007/s11240-018-1412-y>
- Debnath, S.C. (2007). Propagation of Vaccinium in vitro: a review. *International Journal of Fruit Science*, 6 (2), 47–71. [https://doi.org/10.1300/J492v06n02\\_04](https://doi.org/10.1300/J492v06n02_04)
- Enríquez-del Valle, J. R., Alcará Vázquez, S. E., Rodríguez-Ortiz G., Miguel-Luna, M. E., & Vázquez,

- Calep M. (2016). Fertirriego en vivero a plantas de *Agave potatorum* Zucc micropropagadas-aclimatizadas. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 7(5), 1167-1177. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S200709342016000501167&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S200709342016000501167&lng=es&tlng=es).
- Enríquez-del Valle, J. R., Rodríguez-Ortiz, G., Ruiz Luna, J., Pacheco-Ramírez, A. J., & Vásquez-Vásquez, L. (2018). Crecimiento y condición nutrimental de plantas micropropagadas de *Agave angustifolia* abonadas y fertirrigadas en vivero. *Revista Mexicana de Agroecosistemas*, 5(2), 106–115. [https://rmae.voaxaca.tecnm.mx/wp-content/uploads/2020/11/4-2018\\_RMAE-28-Agave-to-edit.pdf](https://rmae.voaxaca.tecnm.mx/wp-content/uploads/2020/11/4-2018_RMAE-28-Agave-to-edit.pdf)
- Fan, S., Jian, D., Wei, X., Chen, J., Beeson, RC, Zhou, Z., & Wang, X. (2017). Micropropagation of blueberry ‘Bluejay’ and ‘Pink Lemonade’ through *in vitro* shoot culture. *Scientia Horticulturae*, 226, 277–284. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.08.052>
- García-González, R., Enríquez-del Valle J. R., Rodríguez-Ortiz G., Campos-Ángeles G. V., Pérez-García E. A., & Ruiz-Luna J. (2020). Mineral salts and growth regulators for micropropagation of *Laelia halbingeriana* Salazar & Soto Arenas. *International Journal of Agriculture and Natural Resources*, 47(2), 105–116. <https://doi.org/10.7764/ijanr.v47i2.2086>
- George, E. F.; Hall, M. A., & De-Klerk, G. J. (2008). Chapter 3: The Components of Plant Tissue Culture Media I: Macro-and Micro-Nutrients. *Plant propagation by tissue culture*. 3rd. Ed. Springer, Dordrecht. pp. 65–113. [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-5005-3\\_3](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-5005-3_3)
- Georgieva, M., & Kondakova, V. (2021). *In vitro* propagation of *Vaccinium corymbosum* L. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 27 (2), 323–327. <https://www.agrojournal.org/27/02-11.pdf>
- Greenway, M. B., Phillips, I. C., Lloyd, M. N., Hubstenberger, J. F., & Phillips, G. C. (2012). A nutrient medium for diverse applications and tissue growth of plant species *in vitro*. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, 48(4), 403–410. <https://doi.org/10.1007/s11627-012-9452-1>
- Guillén, S., Martínez-Palacios, A., Martínez, H., & Martínez-Ávalos, J. G. (2015). Organogénesis y embriogénesis somática de *Beaucarnea inermis* (Asparagaceae), una especie amenazada del noreste de México. *Botanical Sciences*, 93(2), 221–230. <https://doi.org/10.17129/botsci.129>
- Hine-Gómez, A., & Abdelnour-Esquivel, A. (2013). *In vitro* establishment of blueberry (*Vaccinium corymbosum* L). *Tecnología En Marcha*, 26(4), 64–71. <https://doi.org/10.18845/tm.v26i4.1584>
- Ibarra-López, A., Ojeda-Zacarías M. C., García-Zambrano E. A., & Gutiérrez-Diez A. (2016). Inducción in vitro de brotes de dos cultivares de aguacate raza Mexicana *Persea americana* var. *drymifolia* Schldl. & Cham. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 7(2), 337–347. <https://doi.org/10.29312/remexca.v7i2.348>
- Li, Q., Yu, P., Lai, J., & Gu, M. (2021). Micropropagation of the potential blueberry rootstock—*Vaccinium arboreum* through axillary shoot proliferation. *Scientia Horticulturae*, 280, 109908. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.109908>
- López-Escamilla, A. L., López-Herrera M., & Loaiza-Alanís C. (2016). Efecto de diferentes agentes gelificantes en la germinación y desarrollo *in vitro* de plántulas de *Echinocactus platyacanthus* link Et Otto (Cactaceae). *Polibotánica*, 42 (21), 153–166. <https://doi.org/10.18387/polibotanica.42.8>
- Lloyd, G., & McCown, B. H. (1980). Commercially feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. *Combined proceedings, International Plant*

- Propagators Society*, 30, 421–427.
- Martínez-Villegas, Y. M., Andrade-Rodríguez M., Colinas-León M. T., Villegas-Torres O. G., Castillo-Gutiérrez A., & Alía-Tejacal I. (2015). Efecto de las sales inorgánicas del medio de cultivo en el crecimiento de pascuíta (*Euphorbia leucocephala* Losty). *Revista Fitotecnia Mexicana*, 38(4) 369– 374. <https://www.scielo.org.mx/pdf/rfm/v38n4/v38n4a4.pdf>
- Molinos-da Silva, C., Villegas-Monter A., Sánchez-García P., Alcántar-González G., Rodríguez-Mendoza M. N., & Ruiz-Posadas L. M. (2004). Efecto del potencial osmótico y contenido de CA en el medio de cultivo sobre la distribución de Ca<sup>2+</sup> y K<sup>+</sup>, producción de biomasa y necrosis apical de VID R110. *Interciencia*, 29(7), 384-388. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33909407>
- Montiel-Frausto, L. B., Enríquez-del Valle J. R., & Cisneros A. (2016). Propagación *in vitro* de *Hylocereus monacanthus* (Lem.) Brittony Rose. *Bioteología Vegetal*, 16(2), 113–123. <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/516/pdf>
- Morard P., & Henry M. (1998). Optimization of the mineral composition of *in vitro* culture media. *Journal of Plant Nutrition*, 21(8), 1565-1576. <https://doi.org/10.1080/01904169809365504>
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473–479. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Ostrolucká MG, Libiaková G, Ondrušková E., & Gajdošová A. (2004<sup>a</sup>). *In vitro* propagation of *Vaccinium* species. *Acta Universitatis Latviensis Biology*, 676, 207-212. <https://eeb.lu.lv/EEB/2004/Ostrolucka.pdf>
- Ostrolucká, M., Gajdošová, A., Ondrušková, E., Latečková, M., & Libiaková, G. (2010<sup>b</sup>). Effect of Medium pH on Axillary Shoot Proliferation of Selected *Vaccinium vitis-idaea* L. Cultivars. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 52(2), 92-96. <https://doi.org/10.2478/v10182-010-0029-1>
- Ramage, C. M., & Williams R. R. (2002). Mineral nutrition and plant morphogenesis. *In Vitro Cellular & Developmental Biology -Plant*, 38 (2), 116-124. <https://doi.org/10.1079/IVP2001269>
- Retamales, J. B., & Hancock J. F. (2012). Blueberries. <http://books.google.com.mx>
- Ruzić, D., Vujović, T., Cerović, R., Ostrolucka, MG., & Gajdosova, A. (2012). Micropropagation in vitro of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.). *Acta Horticulturae*, 926(36), 265–272. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2012.926.36>
- SAS Institute. (2014). Statistical Analysis System (SAS) User's Guide. SAS/ETS® 9.4. SAS Institute Inc. Cary, North Carolina, USA.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2022). Panorama agroalimentario. <https://www.gob.mx/siap/acciones-y-programas/panorama-agroalimentario-258035>
- Steiner A. A. (1984). The universal nutrient solution. Sixth International Congress on Soilless Culture. Wageningen, The Netherlands. pp: 633-650.
- Tetsumura T, Matsumoto Y, Sato M, Honsho C, Yamashita K, Komatsu H, Sugimoto Y. & Kunitake H. (2008). Evaluation of basal media for micropropagation of four highbush blueberry cultivars. *Scientia Horticulturae*, 119(1), 72-74. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2008.06.028>
- United States Department of Agriculture (USDA). (2021). Blueberries Around the Globe-Past, Present, and Future. United States Department of Agriculture. <https://www.fas.usda.gov/data/blueberries-around-globe-past-present-and-future>
- Wang, Y., Dong, X., Huang, H.-Y., & Wang, Y.-Z. (2019). Establishment of efficient adventitious

- shoots induction system and ex vitro rooting in *Vaccinium corymbosum* (Ericaceae). *Botanical Sciences*, 97(2), 180-191. <https://doi.org/10.17129/botsci.2135>
- Wolfe, D.E., Eck, P., Chin, C.-K. (1983). Evaluation of seven media for micropropagation of highbush blueberry. *HortScience*, 18(5), 703–705. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.18.5.703>
- Zárate, N. B., Yescas, A. A. & Morales, D. V. J. (2017). Manejó agronómico del cultivo de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) en la Sierra Norte de Oaxaca. *Universidad & Ciencia*, 6, 138–155. <http://revistas.unica.cu/index.php/uciencia/article/view/707>