

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

FACULTAD DE CIENCIAS



**“EFECTO DEL ÁCIDO INDOL BUTÍRICO Y NAFTALEN ACÉTICO
SOBRE LA PRODUCCIÓN Y MORFOLOGÍA RADICULAR *IN*
VITRO DE KIWI VERDE (*Actinidia deliciosa* var. *Hayward*)
Y LA SUPERVIVENCIA DE LA PLANTA *EX VITRO*”**

Presentada por:

ANGEL CHRISTIAN ROJAS FAJARDO

Tesis para Optar el Título Profesional de:

BIÓLOGO

Lima – Perú

2020

La UNALM es la titular de los derechos patrimoniales de la presente investigación
(Art. 24. Reglamento de Propiedad Intelectual)

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

FACULTAD DE CIENCIAS

**“EFECTO DEL ÁCIDO INDOL BUTÍRICO Y NAFTALEN ACÉTICO
SOBRE LA PRODUCCIÓN Y MORFOLOGÍA RADICULAR *IN*
VITRO DE KIWI VERDE (*Actinidia deliciosa* var. *Hayward*)
Y LA SUPERVIVENCIA DE LA PLANTA *EX VITRO*”**

Presentada por:

ANGEL CHRISTIAN ROJAS FAJARDO

Tesis para Optar el Título Profesional de:

BIÓLOGO

Sustentada y aprobada por el siguiente jurado:

Ph.D. Alfredo Salomón Rodríguez Delfin
PRESIDENTE

Mg.Sc. Abelardo Ciro Calderón Rodríguez
MIEMBRO

Blgo. Milagros del Rosario Chang la Rosa
MIEMBRO

Dra. Antonieta Ornella Gutiérrez Rosati
ASESORA

DEDICATORIA

El presente trabajo va dedicado a mi familia, quienes siempre estuvieron apoyándome y guiándome en todo momento.

A mi mamá Julissa, que con sus consejos, amor, confianza y valentía; permitieron que cumpliera todas mis metas propuestas.

A mis hermanas Valeria y Ximena, de quienes aprendo siempre a ser mejor persona.

Y a mi abuelo Augusto, que con su apoyo incondicional; deseó que sea mejor en esta vida.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a la Dra. Antonietta, que con sus consejos y su guía; me enseñó a ir por mas y lograr culminar este trabajo de investigación.

Al equipo CIRGEBB, con quienes en las buenas y malas, hemos estado unidos compartiendo experiencias.

A Marco, quien en todo momento me hizo recordar que la familia siempre prevalece.

A mis amigos, Jimmy, Gerónimo y Giancarlo, con quienes aprendí mucho de la ciencia, asi como de la vida.

Gracias infinitamente a todos Uds.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	vi
ABSTRACT	vii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LA LITERATURA	3
2.1. Definición del problema	3
2.2. Marco Conceptual	5
2.2.1. Descripción del cultivo.....	5
2.2.1.1. Origen y distribución geográfica	5
2.2.1.2. Proceso de domesticación.....	7
2.2.1.3. Clasificación taxonómica	7
2.2.1.4. Descripción Botánica.....	7
2.2.1.5. Composición del fruto	10
2.2.2. Especies cultivadas.....	12
2.2.2.1. <i>Actinidia deliciosa</i> (Chev.) Liang y Ferguson.....	12
2.2.2.2. <i>Actinidia chinensis</i>	13
2.2.2.3. <i>Actinidia arguta</i> y <i>Actinidia kolomikta</i>	15
2.2.3. Cultivo de kiwi	16
2.2.3.1. Requerimientos de suelo.....	16
2.2.3.2. Requerimientos climáticos	17
2.2.4. Zonas de producción	17
2.2.5. Cultivo de tejidos vegetales in vitro	18
2.2.5.1. Micropropagación.....	19
2.2.5.2. Medio de cultivo.....	19
2.2.5.3. Hormonas vegetales.....	21
2.2.6. Aclimatación	25
III. MATERIALES Y METODOLOGÍA	27
3.1. Lugar de ejecución.....	27

3.2. Infraestructura del laboratorio	27
3.3. Materiales.....	27
3.4. Metodología.....	29
3.4.1. Homogeneización de explantes.....	29
3.4.2. Instalación del experimento	29
3.4.2.1. Preparación de los Tratamientos.....	29
3.4.2.2. Micropropagación.....	29
3.4.2.3. Aclimatación.....	31
IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES	33
4.1 Desarrollo y Morfología Radicular in vitro	33
4.1.1 Evaluación del desarrollo radicular a los 30 días de cultivados	
los explantes	33
4.1.2 Evaluación del desarrollo radicular a los 60 días de cultivados	
los explantes	36
4.2 Supervivencia ex vitro	40
V. CONCLUSIONES	43
VI. RECOMENDACIONES	44
VII. BIBLIOGRAFÍA	45
VIII. ANEXOS	53

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Principales productores y producción de kiwi a nivel mundial.	5
Tabla 2: Valor nutricional y capacidad antioxidante por cada 100 gramos de fruta kiwi verde amarillo.	11
Tabla 3: Valores promedio para peso fresco y peso seco de las raíces a los 30 días de cultivados los explante in vitro.	33
Tabla 4: Valores promedio para peso fresco y peso seco de las raíces a los 30 días de cultivados los explante in vitro.	36
Tabla 5: Evaluación de la supervivencia ex vitro después de 60 días in vitro.	40

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Distribución natural de especies de Actinidia (El número de especies se muestra por la intensidad del sombreado).....	6
Figura 2: Huerto establecido de plantas kiwi verde var. Hayward en Te Puke, Nueva Zelanda.....	8
Figura 3: Partes importantes de la planta Actinidia deliciosa. (a) Sistema radical de una planta de vivero. (b) Yema de madera. (c) Brote primaveral a partir de una yema vegetativa. (d) Flor estaminada. (e) Flor pistilada. (f) Hojas.	10
Figura 4: Diversidad de especies del género Actinidia.....	12
Figura 5: Fruto de kiwi verde var. Hayward. (a) Frutos obtenidos de plantaciones en vivero. (b) Corte transversal del fruto.....	13
Figura 6: Fruto de kiwi amarillo var. SunGold. (a) Frutos en venta en supermercado (b) Corte transversal del fruto.....	15
Figura 7: Frutos de Actinidia arguta.....	16
Figura 8: Principales países exportadores de kiwi a nivel mundial.....	18
Figura 9: Desarrollo radicular de kiwi verde a los 30 días de cultivado. (a) Control. (b) MS/2 +IBA 1.0 ppm.....	34
Figura 10: Promedios de los tratamientos para la evaluación a los 30 días. (a) Peso fresco. (b) Peso seco.....	35

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Composición del medio de cultivo MS/2 (CIRGEBB).....	54
Anexo 2: Forma disponible y función de los constituyentes de un medio de cultivo para plantas <i>in vitro</i>	55
Anexo 3: Preparación y aplicación de Cercobin.....	56
Anexo 4: Reporte de resultados totales obtenidos.....	57
Anexo 5: Análisis De La Varianza (ANOVA)	58
Anexo 6: Registro Fotográfico.....	61

RESUMEN

La tendencia de la población a consumir alimentos nuevos, de extraordinario sabor y benéficos para la salud en su dieta, impulsan el cultivo de alimentos no populares.

El kiwi es una fruta de la cual se ha oído, pero debido a la poca disponibilidad en los mercados de Perú, no muchas personas consumen este producto. Parte de esta baja disponibilidad, es la ausencia de cultivos de kiwi en territorio peruano y sumado a esto, todo el kiwi que se encuentra en el mercado es importado; elevando así su precio de venta.

Actualmente se viene realizando trabajos de introducción de esta fruta; sin embargo, no han logrado resultados. Por lo que se espera que alguna variedad de kiwi se adapte.

Hablar del cultivo de kiwi es tomar en consideración el desarrollo radicular, ya que determina el desarrollo óptimo de la planta; por ello, el objetivo de este estudio es analizar el efecto de dos auxinas: Ácido Naftalen acético (ANA) y Ácido Indol Butírico (IBA), en el desarrollo y morfología radicular *in vitro* del kiwi verde variedad Hayward sobre medio el medio de cultivo MS/2; y evaluar la supervivencia de la planta a condiciones *ex vitro*. Se utilizaron cinco tratamientos, con la evaluación del desarrollo radicular *in vitro* a través del peso seco y peso fresco, y la morfología radicular *in vitro* a través de la presencia o ausencia de pelos radiculares; a los 30 y 60 días. Así se obtuvo que el mejor medio para enraizar estas plantas *in vitro* fue el tratamiento con IBA a 1.0 ppm al producir gran cantidad de masa vegetal; sin embargo, los tratamientos con ANA 1.0 ppm e IBA 0.5 ppm presentaron un mayor porcentaje de supervivencia *ex vitro* entre 80-86.6 por ciento, al cabo de 30 días de aclimatadas. En cuanto a la presencia de pelos radiculares, los tratamientos suplementados con ANA e IBA presentaron estas estructuras al cabo de 60 días; no obstante, los tratamientos suplementados con IBA suelen aparecer al cabo de 30 días de cultivados los explantes.

Palabras clave: Kiwi, *Actinidia deliciosa* var. Hayward, micropropagación *in vitro*, Ácido Naftalen Acético, Ácido Indol Butírico.

ABSTRACT

The tendency of the society to consume new foods, of extraordinary taste and beneficial for the health in their diet, impels the cultivation of not popular foods.

The kiwi is a fruit that has been heard, but due to the low availability in the markets of Peru, not many people consume this product. Part of this low availability is the absence of kiwifruit crops in Peruvian territory and added to this, all kiwifruit found in the market is imported; thus raising its sale price.

Currently, work is being done to introduce this fruit; however, no results have been achieved. Therefore, it is expected that some variety of kiwifruit will adapt.

Talking about kiwi cultivation is taking into consideration the root development, since it determines the optimal development of the plant; for this reason, the objective of this study is to analyze the effect of two auxins: Acetic Naftalen Acid (ANA) and Indol Butyric Acid (IBA), in the development and in vitro root morphology of green kiwi Hayward variety on the medium of MS/2 cultivation; and to evaluate the survival of the plant to ex vitro conditions. Five treatments were used, with the evaluation of in vitro root development through dry weight and fresh weight, and in vitro root morphology through the presence or absence of root hairs; at 30 and 60 days. This way, it was obtained that the best means to root these plants in vitro was the treatment with IBA at 1.0 ppm when producing great amount of vegetable mass; however, the treatments with ANA 1.0 ppm and IBA 0.5 ppm presented a greater percentage of ex vitro survival between 80-86.6 percent, after 30 days of acclimatization. As for the presence of root hairs, treatments supplemented with ANA and IBA showed these structures after 60 days; however, treatments supplemented with IBA usually appear after 30 days of cultivation of explants.

Keywords: Kiwi, *Actinidia deliciosa* var. Hayward, in vitro micropropagation, Naphthalene Acetic Acid, Indole Butyric Acid.

I. INTRODUCCIÓN

El cultivo de berries como arándano, frambuesa y aguaymanto, impulsados en los últimos 10 años por Sierra y Selva Exportadora; así como otros cultivos como la Pitahaya y Sanki; llamados frutos exóticos; presentan propiedades nutricionales y antioxidantes benéficas para la salud, según el diario El Comercio (2017).

Adicionalmente, se aprecia la creciente tendencia de la población a consumir alimentos balanceados, lo que hacen que nuevas frutas como el kiwi, tengan la oportunidad de ser impulsados en su cultivo debido a sus propiedades nutricionales y alto valor en el mercado.

El fruto del kiwi es destacado por presentar valores superiores en contenido de azúcares y vitamina C, así mismo a dicho fruto se le reconoce capacidad antioxidante. En relación a su alto contenido de vitamina C, se dice que supera en más del doble al contenido de esta vitamina que presenta la naranja; ya que un solo fruto puede cubrir las necesidades diarias de esta vitamina. Dicha vitamina es importante en la dieta humana; por reforzar el sistema inmunitario, y ayudar a disminuir los síntomas de enfermedades como los resfriados o gripe. (García et al. 2015).

En el año de 1973, España y Portugal, países consumidores de kiwi; empezaron a cultivar esta fruta y tras haber satisfecho la demanda para el consumo local, empezaron a exportar éste fruto, aumentando así la superficie de producción en dichos países (Salinero y Martino 1998). Chile empezó la producción de kiwi para el consumo local en el año de 1976, y al cabo de tres décadas de adecuación progresiva, logró aumentar la producción de 37.000 toneladas a 135.000 toneladas manteniendo la misma superficie de cultivo (García et al. 2015). Actualmente Chile se encuentra en entre los 5 primeros exportadores de kiwi a nivel mundial (García et al. 2015), siendo principal país exportador de kiwi para el Perú con un 94 por ciento de la producción total (2.735 toneladas) en el año 2017 (ITC).

El kiwi es considerado un fruto rentable, y países como Perú debería empezar a producirlo como una alternativa a otros productos no tradicionales, como la palta o la uva. (León 2014).

simismo, es preciso señalar que no se producen plántulas de kiwi en Perú, por ello una buena alternativa para su introducción e inicio de plantaciones sería la multiplicación *in vitro* y sexado de esta especie.

El Centro de Investigación de Recursos Genéticos Biotecnología y Bioseguridad (CIRGEBB) de la UNALM, ha realizado investigaciones en el cultivo *in vitro* de kiwi; siendo la etapa de adaptación a invernadero uno de los pasos cruciales y donde se tienen pérdidas enormes de material vegetal de kiwi aptas para su siembra en campo. Por lo tanto, la presente investigación busca producir una planta de kiwi variedad Hayward con buena conformación radicular, empleando hormonas de enraizamiento en la fase de cultivo *in vitro*, y mejorar así su adaptación a condiciones *ex vitro*.

OBJETIVOS

1. Objetivo general

- Comparar el efecto independiente de las auxinas Ácido Indol Butírico (IBA) y Ácido Naftalen Acético (ANA), sobre la producción y morfología radicular de “Actinidia deliciosa var. Hayward” (kiwi verde) cultivada *in vitro*; que permita una mejor adaptación a condiciones *ex vitro*.

2. Objetivos específicos

- Evaluar el peso fresco y peso seco de las raíces de kiwi obtenidas *in vitro* para cada concentración hormonal a los 30 y 60 días.
- Observar la presencia o ausencia de pelos radiculares en las raíces de kiwi obtenidas *in vitro* para cada concentración hormonal a los 30 y 60 días.
- Evaluar la supervivencia de las plántulas aclimatadas al cabo de 30 días.

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1. Definición del problema

Un estudio realizado por la Food and Agriculture Organization (FAO) (García et al. 2013), mostró un ranking de producción de kiwi a nivel mundial (Tabla 1), donde figuró China como primer país productor con 1,765,847 (t), seguido de Italia con 447,560 (t) y Nueva Zelanda 382,337 (t). Los países no figurados poseen una producción en su totalidad de 2,234 (t), siendo mínima, pudiéndose afirmar que la producción de kiwi en el Perú es escasa o nula actualmente.

En el Perú, gran parte de esta fruta se encuentran disponibles en los mercados a un precio muy elevado, dificultando su compra o sea conocido por la población. Además, valores de exportación obtenidos por la International Trade Center (ITC) en el año 2017, informa que los kiwis importados a Perú provienen de Chile; llegando a ser el 94 por ciento de la importación total con 2.735 toneladas en el año 2017 (ITC). Por esta razón, si se introdujera esta fruta en territorio peruano para su producción, ayudaría a solucionar el problema de los precios en el mercado.

Un informe realizado por Manero (2015) en una agencia agraria de noticias, señaló que el presidente del comité del kiwi de Chile Carlos Cruzat, visualiza con optimismo la producción de kiwi en territorio peruano mencionando lo siguiente:

“La producción y exportación de kiwi es un éxito en países del hemisferio sur como Nueva Zelanda o Chile. En el Perú, al igual que la experiencia del arándano-debería ser perfectamente posible producir kiwi; con las ventajas que tenemos aquí en términos de bajas precipitaciones, agua disponible, mano de obra más competitiva y probablemente la factibilidad para obtener cosechas de octubre a marzo, donde hay menos abastecimiento combinado de los principales países exportadores.”

Además, la revista Citrinotas (2017) indicó que los cítricos peruanos crecieron un 17 por ciento en volumen de exportación; a pesar de los fenómenos ambientales ocurridos como

El Niño costero. Por lo tanto, el mercado para la producción y exportación de kiwi puede generar grandes ganancias económicas que sigan ayudando al crecimiento en exportación de cítricos.

Para el cultivo de kiwi se debe tomar en cuenta el desarrollo radicular, ya que éstas son altamente exigentes en oxígeno, tendiendo a profundizar 2 m y tener un desarrollo lateral de 4-5 m. Las raíces suelen presentar asfixia radicular si no se da una fertilización, riego y manejo de suelo adecuado; por lo que un gran desarrollo de estas asegura la supervivencia de la planta (García et al. 2015). El desarrollo radicular también se verá afectado por la textura del suelo. Suelos con gran cantidad de arcilla son perjudiciales, ya que por su naturaleza tiende a almacenar agua haciendo posible la pudrición de las raíces. Para un mejor desarrollo de raíces, es recomendable la utilización de suelos arenosos en mayor porcentaje ya que se caracterizan por tener un buen drenaje (CIREN 1988, García et al. 2015).

Otro factor a tomar en cuenta para el cultivo de kiwi es el clima. Caracterizándose por necesitar climas templados alcanzando un desarrollo óptimo entre temperaturas de 12-21 °C (Kulczewski 2010); es posible la producción en regiones sierra del Perú como los valles interandinos bajos e intermedios pertenecientes principalmente al departamento de Cajamarca (MINAGRI 2015).

Sin embargo, los cultivares de kiwi son atacados por enfermedades fúngicas o bacterianas; siendo la más común, la enfermedad conocida como chancro bacteriano del kiwi. Esta enfermedad es causada por *Pseudomonas syringae* pv. (PSA); atacando especialmente a los brotes en las épocas de desarrollo y producción, y generando grandes pérdidas (García et al. 2015).

Una solución a éstos problemas fitosanitarios, es hacer uso de tecnologías como el cultivo *in vitro* de tejidos vegetales, permitiendo así la multiplicación masiva o micropropagación y la optimización del uso de fitohormonas para un desarrollo radicular que permita la supervivencia de la planta tanto *in vitro* como *ex vitro*. Este proceso permite además obtener plantas genéticamente idénticas y libre de cualquier patógeno en un corto tiempo, llegando a ser rentable, si se llevara a escala industrial (Segretín 2006).

Tabla 1: Principales productores y producción de kiwi a nivel mundial.

PAÍS	PRODUCCIÓN (t)
China	1.765.847
Italia	447.560
Nueva Zelanda	382.337
Chile	255.758
Grecia	162.800
Francia	55.999
Turquía	41.635
Irán	31.603
Japón	29.225
Estados Unidos	27.300
Portugal	21.306
España	19.800
Corea	10.789
Israel	4.281
Australia	3.000
Otros	2.234
TOTAL	3.261.474

FUENTE: Elaborado con base en García et al. 2015.

2.2. Marco Conceptual

2.2.1. Descripción del cultivo

2.2.1.1. Origen y distribución geográfica

El centro de origen geográfico del género *Actinidia sp.* se establece en las montañas y colinas del suroeste de China, en donde crece de manera silvestre; a excepción de 4 especies pertenecientes al mismo género que son propias de los países aledaños como Vietnam, Nepal y Japón (García et al. 2015). Sin embargo, un estudio realizado por Ferguson (1990) informa que además de los países mencionados anteriormente, también se encontraron especies nativas de kiwi en Corea, India y Rusia. La figura 1 describe la distribución de las especies del género *Actinidia*.

A finales del siglo XX, Ferguson reconoció un total de 60 especies, afirmando que existe interés comercial agronómico para dos especies: *Actinidia deliciosa* y *Actinidia chinensis*

(Mohan y Katsuaki 2003; García et al. 2015). Un último estudio realizado por Huang et al. (2001) identificó 66 especies para este género.

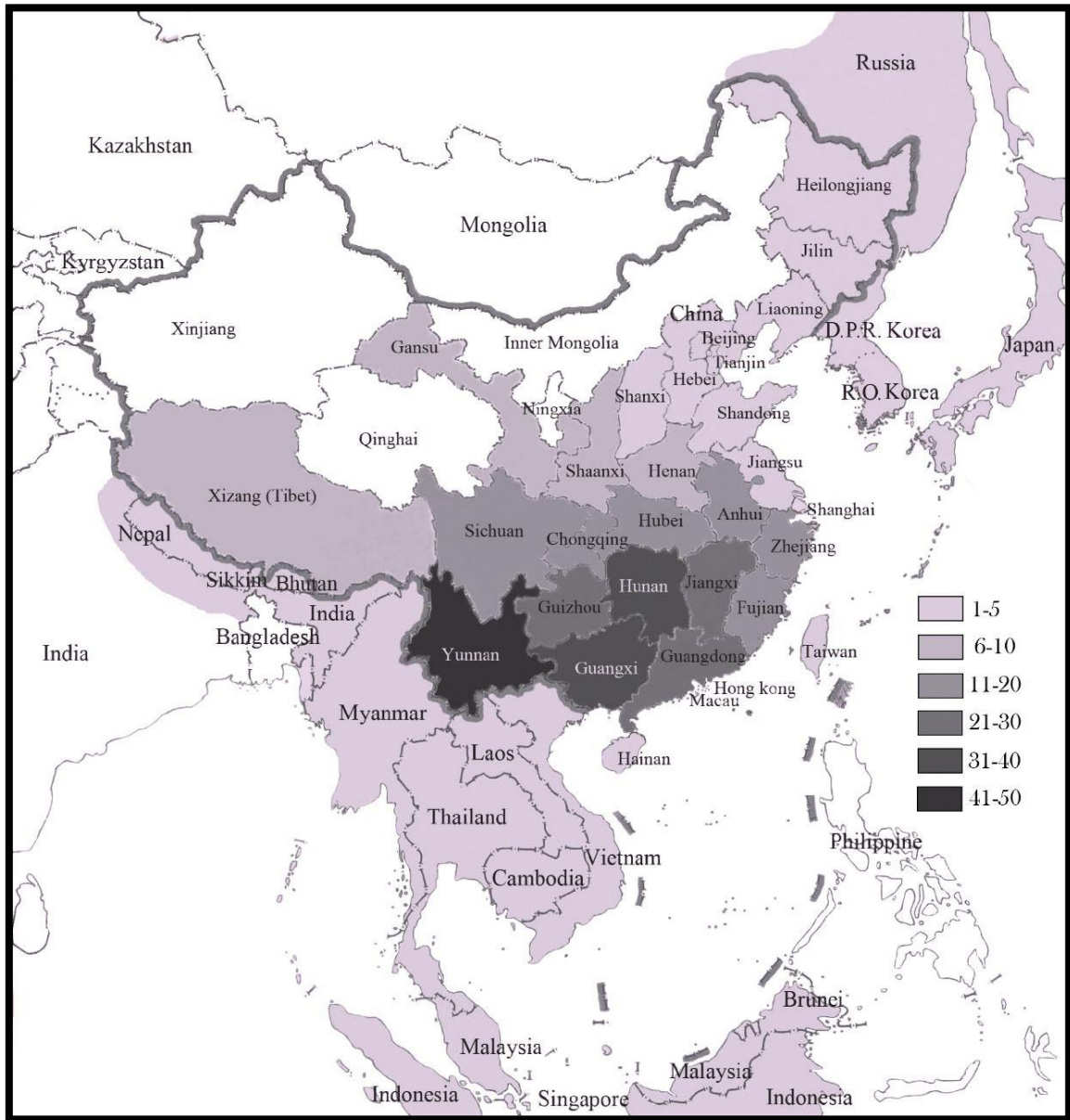


Figura 1: Distribución natural de especies de Actinidia (El número de especies se muestra por la intensidad del sombreado).

FUENTE: Tomado de Huang 2016a:185.

2.2.1.2. Proceso de domesticación

Los primeros intentos de domesticación del kiwi se realizaron a partir del año 1902 en Nueva Zelanda, donde una maestra de Wanganui en Nueva Zelanda, trajo consigo semillas de *Actinidia deliciosa* silvestre. En 1906, se adaptó perfectamente y empezó a cultivarse; y fue en el año 1928 que el científico Hayward Wright, a través de cruzamientos de kiwis silvestres; obtuvo una variedad de kiwi excelente llamado cultivar comercial Hayward (García et al. 2015).

Tras convertirse en una fuente importante de riqueza, se comenzó a exportar sus frutos en 1953; siendo Nueva Zelanda uno de los principales productores del mundo (Segura 2015). En 1959 se le bautiza con nombre de “kiwi” como se le conoce actualmente; debido a que se parece a una especie de pájaro llamado kiwi, que es endémica de este país (García et al. 2015).

2.2.1.3. Clasificación taxonómica

Actinidia deliciosa pertenece a la familia Actinidaceae con grupo aproximado de 5 a 6 docenas de especies (EOL). Dicha enciclopedia lo clasifica de la siguiente manera:

Dominio:	Eukarya
Reino:	Plantae
División:	Spermatophyta
Clase:	Eudicotyledoneae
Orden:	Ericales
Familia:	Actinidiaceae
Género:	Actinidia
Especie:	<i>Actinidia deliciosa</i>

2.2.1.4. Descripción Botánica

La planta de kiwi se caracteriza por ser semi leñosa, trepadora (ver Figura 2), y suele enrollarse sobre árboles u objetos que les permita usar como soporte. Todas las especies del género *Actinidia* son caducifolias llegando a vivir en promedio 50 años (García et al 2015). Presenta hojas grandes, gruesas de forma acorazonada y bordes dentados, además están cubiertos de una fina vellosidad. Es una planta dioica, es decir posee flores unisexuales, con flores funcionales masculinas y femeninas en plantas separadas (CIREN 1998).



Figura 2: Huerto establecido de plantas kiwi verde var. Hayward en Te Puke, Nueva Zelanda.
FUENTE: Tomado de Huang 2016b:198.

Las raíces son gruesas y el color varía de rosado a marrón dependiendo si es de origen por semillas o de origen clonal. Son altamente exigentes en oxígeno y dependiendo de las condiciones del terreno, las raíces pueden llegar a profundizar hasta 2 m y 4-5 m de desarrollo horizontal (García et al. 2015). Según Huang (2016), las raíces hasta el año de desarrollo poseen un contenido de humedad del 84-89 por ciento; con un tamaño de 20-30 cm de profundidad y 25-40 cm de crecimiento horizontal. La exodermis de la raíz es gruesa agrietada; y se descama con la antigüedad de la planta. Lemon y Considine (1992) indican desarrollo primario de la raíz es en cuanto a longitud, mientras que el desarrollo secundario tiende a aumentar el diámetro de las raíces sintetizando además lignina y suberina en la peridermis.

Los brotes son particularmente muy vellosos, pudiendo presentar tonalidades rojizas. Cambian a color marrón cuando entran a invierno, donde la planta entra en estado de

inactividad vegetativa. Existen dos tipos de brotes. Los brotes determinados se desarrollan hasta la sexta hoja, mientras que los brotes indeterminados se desarrollan hasta debilitarse (García et al. 2015).

Las yemas ubicadas en las axilas de las hojas pueden ser de 2 tipos. Las yemas vegetativas que dan lugar a brotes; y de las yemas mixtas se generan brotes o botones florales (CIREN 1998; Huang 2016). Sin embargo, García et al. (2015) añade otro tipo denominada “yema de madera” que son aquellas provenientes del estado de inactividad vegetativa por el frío invernal. McPherson et al. (1997) lo describe como dormancia invernal.

Las hojas son simples y van alternadas. De tamaño grande, del grosor de un papel y membranosa. La cutícula de las hojas es delgada con una o dos capas de células en empalizada y células del mesófilo (Huang 2016). En cuanto a morfología, son hojas caducas, acorazonadas, limbo grande, con borde dentado y aserrado. El haz presenta una tonalidad verde oscura, en cuanto al envés es pálido; ambos cubiertos de una fina vellosidad (CIREN 1998). Tiende a ser más pubescente y acorazonado en hojas provenientes de brotes indeterminados (García et al. 2015).

Las flores son grandes de color blanco cremoso. Estas nacen de los primeros brotes del año, en forma de inflorescencia del tipo cima (García et al. 2015). Se desarrollan en las ocho primeras hojas del brote anual, generando entre dos y ocho flores por nudo dentro del género *Actinida sp.* (CIREN 1998). En la variedad Hayward generan tres flores por nudo, con la posibilidad de abortar las flores laterales. Aunque morfológicamente las flores sean hermafroditas, son fisiológicamente unisexuales; debido a que poseen uno de los sexos atrofiados (García et al. 2015).

El fruto es de forma ovalada, midiendo dos pulgadas de largo y llegando a pesar 70-100 g. El color de la piel es marrón cubierto de pelos (Saliyan et al. 2017). Posee 34-35 carpelos, llegando a contener por carpelo 11-45 óvulos con placentación axial.

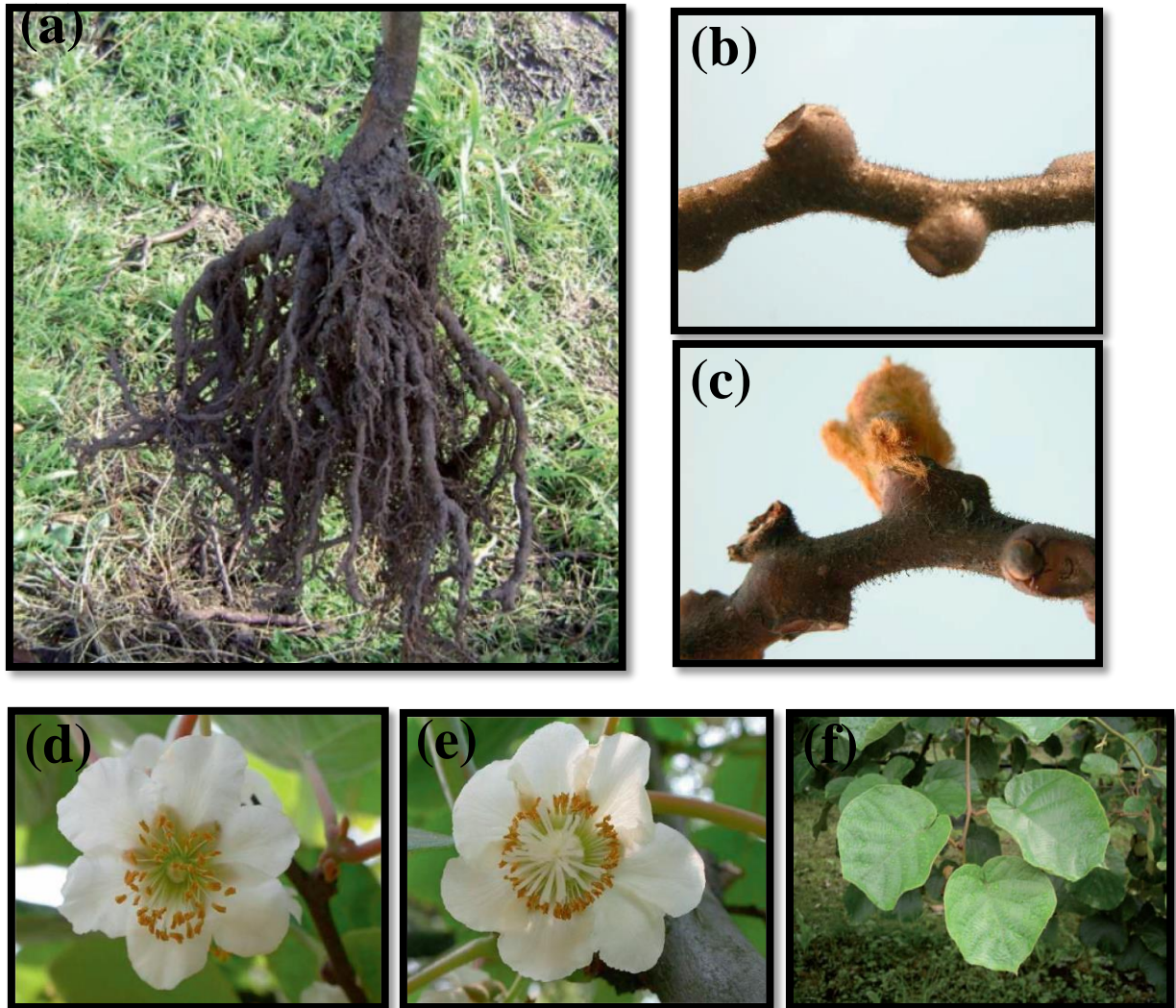


Figura 3: Partes importantes de la planta *Actinidia deliciosa*. (a) Sistema radical de una planta de vivero. (b) Yema de madera. (c) Brote primaveral a partir de una yema vegetativa. (d) Flor estaminada. (e) Flor pistilada. (f) Hojas.

FUENTE: Tomado de García et al. 2015:23 y Huang 2016c

2.2.1.5. Composición del fruto

El kiwi contiene nutrientes que ayudan a promover la salud humana. Dentro de los nutrientes conocidos se encuentran el magnesio, folato, vitamina C y E (ver Tabla 2); además contiene fibras dietéticas (Ferguson y Ferguson 2003). Es reconocida por su alto contenido en vitamina C, que supera el contenido de la naranja (García et al. 2015); conteniendo 85 mg de ácido ascórbico por 100 gr de fruto en la variedad Hayward (Ferguson y MacRae 1991).

Tanto la vitamina C como la E, hacen que el fruto tenga propiedad antioxidante (García et al. 2015); señalando también Motohashi et al. (2002) la capacidad antioxidante y otros compuestos bioactivos que la hacen antitumoral.

La actinidina, una enzima cisteína proteasa presente en el fruto; es altamente activa (Nishiyama 2007; Boland 2013; Maddumage et al. 2013), pueden generar daños a la piel si se consumen en grandes cantidades; sin embargo, Atkinson y MacRae (2007) encuentran en esta enzima, aplicaciones biotecnológicas por ser una proteasa.

Tabla 2: Valor nutricional y capacidad antioxidante por cada 100 gramos de fruta kiwi verde amarillo.

Componentes	Cantidad por cada 100 g	
	Kiwi verde	Kiwi amarillo
Valor energético (Kcal)	61.00	60.00
Agua (g)	83.07	83.22
Proteína (g)	1.140	1.230
Hidratos de carbono (g)	14.660	14.230
Fibra dietética (g)	3.000	2.000
Azúcares (g)	8.990	10.980
Ácidos grasos totales (g)	0.520	0.560
Saturados (g)	0.029	0.149
Monoinsaturados (g)	0.047	0.036
Poliinsaturados (g)	0.287	0.207
Total Omega-3 (mg)	74.300	-
Total Omega-6 (mg)	435.000	-
Colesterol (mg)	0.000	0.000
Luteína (µg)	171.000	-
Vitaminas		
A (Retinol) (µg)	4.000	4.000
B1 (Tiamina) (mg)	0.027	0.024
B2 (Riboflavina) (mg)	0.025	0.046
B3 (Niacina) (mg)	0.341	0.280
B6 (Piridoxina) (mg)	0.063	0.057
B9 (Folato) (µg)	38.200	30.600
C (mg)	92.700	105.400
D (µg)	0.000	0.000
E (mg)	1.460	1.490
K (µg)	40.300	5.500
Minerales		
Calcio (mg)	34.000	20.000
Hierro (mg)	0.310	0.290
Magnesio (mg)	17.000	14.000
Fósforo (mg)	34.000	29.000
Potasio (mg)	312.000	316.000
Sodio (mg)	3.000	3.000
Zinc (mg)	0.140	0.100
Capacidad antioxidante (µmol equivalente Trolox/100 g)	862	1.210

FUENTE: Adaptado de García et al. 2015:32.

2.2.2. Especies cultivadas

A partir del último estudio realizado por Huang (2001) en la que describe 66 especies (Figura 4); tan solo son cuatro las especies que se cultivan y consumen en el mundo (García et al. 2015).



Figura 4: Diversidad de especies del género Actinidia.
FUENTE: Tomado de Huang 2016c:218.

2.2.2.1. *Actinidia deliciosa* (Chev.) Liang y Ferguson

Conocida como kiwi verde, es la especie que más se cultiva en el mundo. Se caracteriza por presentar abundante vellosidad. El color de la pulpa es de color verde brillante, con sabor ácido (García et al. 2015). Entre todas las especies del género Actinidia, *Actinidia deliciosa* (Chev.) Liang y Ferguson es la que mayor contenido de vitamina C tiene, y presenta de 12-14° Brix (García et al. 2014).

Variedades comerciales

- Hayward: Es la variedad mayor cultivada en el mundo. Fruto elipsoidal de 5-7 cm de diámetro, llegando a pesar más de 100 g (Figura 5) (García et al. 2014; Strik y Cahn 2000). Es una de las variedades que más tiempo se conserva en frigorífico, llegando hasta los seis meses (García et al. 2015).
- Hayward Clon 8: Es un derivado de Hayward (Testolin et al. 1994), superando en peso a este en un 20 por ciento. Además, es resistente a las heladas (García et al. 2014).

- Top Star: Es una mutación de Hayward, que carece de vellosidad (García et al. 2015).
- Sumer kiwi: Es una variedad obtenida en Italia mediante cruces dirigidos. Los frutos maduran 35 días antes que Hayward; sin embargo, el peso es menor (85 g) y el tiempo de conservación frigorífica es menor (García et al. 2015).
- Bruno: Variedad que da frutos cilíndricos (Stik y Cahn 2000); siendo el peso promedio de estos 60-70 g (García et al. 2014).
- Abbott: Al igual que Sumer kiwi es una variedad que madura antes que Hayward. De peso promedio 60-70 g; con el huso central duro. Posee un corto periodo de conservación (García et al. 2014).
- Monty: Es una variedad resistente a sequías. Genera frutos de tamaño pequeño, generando 3 frutos por botón floral (García et al. 2014).

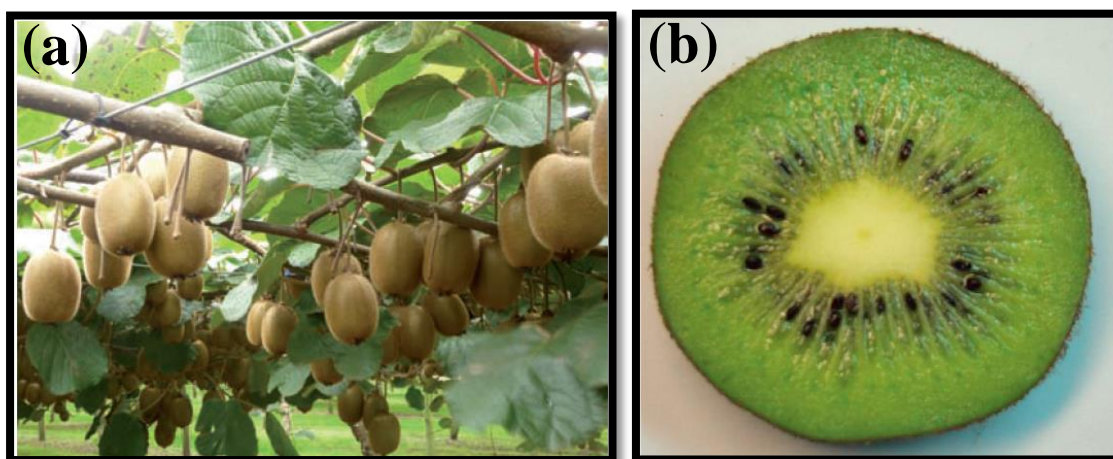


Figura 5: Fruto de kiwi verde var. Hayward. (a) Frutos obtenidos de plantaciones en vivero. (b) Corte transversal del fruto.

FUENTE: Tomado de García et al 2015:39 y Huang 2016c:214.

2.2.2.2. *Actinidia chinensis*

Conocida también como kiwi amarillo. Se caracterizan por presentar la piel delgada de color marrón claro, con poca vellosidad. La pulpa es de color amarilla brillante, con sabor dulce (Lozano 2017). Es la segunda especie con mayor importancia comercial, debido a que esta especie es susceptible a Bacteriosis, siendo el chancro bacteriano (PSA) la enfermedad ocasionada por *Pseudomonas syringae*. Dicha enfermedad es causante de grandes pérdidas en la producción (García et al 2014). Sin embargo, están apareciendo clones más resistentes a dicha enfermedad (García et al. 2015).

Variedades comerciales

- Hort 16A: Conocida con el nombre comercial Zespri Gold, es la variedad más cultivada a nivel mundial. El fruto es de tamaño mediano, con pulpa de color amarillo y alto contenido de azúcar, hierro, vitamina C y E. Debido a que poseen la piel más tierna, es susceptible al ataque de PSA (García et al. 2015). Según Ferguson (1999), la susceptibilidad se debe a que son diploides, en comparación con el kiwi verde que es hexaploide.
- Jintao: Conocida con el nombre comercial Jing Gold, fue seleccionada en China e introducida en Italia. El fruto es más pequeño que Hort 16A, de pulpa color amarilla y sabor dulce. Es menos sensible al ataque por bacteriosis que las otras variedades y con un periodo de conservación de 6 meses (García et al 2015).
- A19: Con el nombre comercial de Enza Gold, es muy similar en características al Hayward. Posee pulpa de color amarillo pálido y tiene mayor punto de acidez entre las variedades de kiwi amarillo (García et al. 2015).
- SunGold: Es una selección de la empresa Zespri desprovista totalmente de vellosidad. Tiene la pulpa de color amarillo dorado, de sabor muy dulce. Tiene menor susceptibilidad a PSA comparado con Hort 16A (García et al. 2015).
- Soreli: Es la variedad que mejor resistencia a heladas tiene entre todas las variedades de kiwi amarillo. El fruto tiene un peso de 100 g, con pulpa amarilla y dulce; además de no presentar vellosidad. Tiene un periodo de conservación de 3-4 meses (García et al. 2015).
- Dori: Es un cultivar que detiene su actividad vegetativa con anticipación, evitando los daños ocasionados por el frío invernal. Con un peso de 100 g, pulpa color amarilla y con un periodo de cosecha 35 días antes es una excelente variedad post cosecha (García et al. 2015).

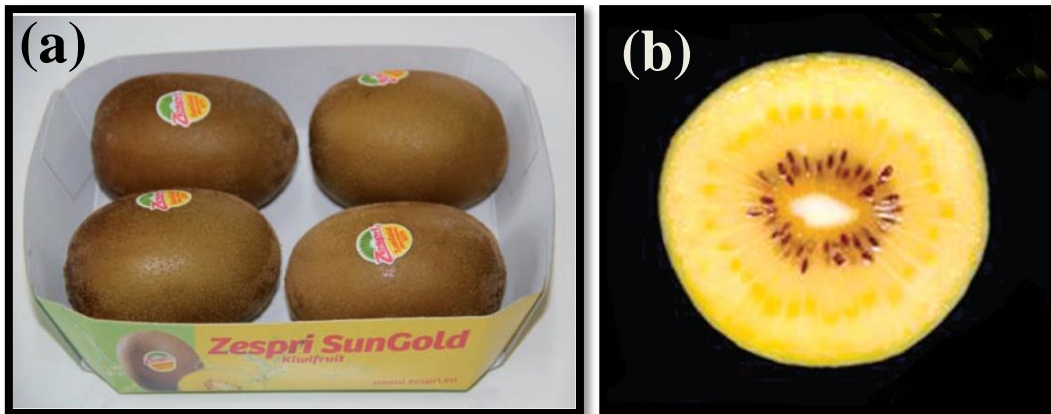


Figura 6: Fruto de kiwi amarillo var. SunGold. (a) Frutos en venta en supermercado. (b) Corte transversal del fruto.

FUENTE: Tomado de García et al. 2015:44 y Huang 2016c:224.

2.2.2.3. Actinidia arguta y Actinidia kolomikta

Son las menos conocidas a nivel de producción comercial. Se conocen como “baby kiwis”, “mini kiwis”, “hardy kiwi” o “kiwi berry”. Su característica principal es ser resistentes a las heladas del frío invernal (García et al. 2015). Esta especie es cultivada en los países de Italia, Grecia, Portugal, España, U.S., Turquía, Corea del Sur y Japón. Con una forma ovoide, llega a tener una longitud de 5-8 cm y un diámetro de 3 cm (Peticila et al. 2012). Raramente llega a pesar los 25 g, además posee la piel lisa, suave, sin vellosidad y comestible (García et al. 2014).

A. arguta

Esta especie puede resistir -23 a -32°C, siendo la mejor especie en resistir al frío invernal, al no afectar los tallos y brotes. El contenido de vitamina C varía de 10-70 mg por cada 100 g de fruta (Stik y Cahn 2000). Según García et al. (2015), la variedad comercial “Meader” es una variedad autofértil y poseen un periodo de conservación de 2-3 meses.

A. Kolomikta

Esta especie puede resistir hasta -40°C, sin embargo, los brotes son sensibles a las heladas destruyéndolas por completo. El tamaño del fruto es inferior a *A. arguta*, con sabor dulce y buen aroma. El contenido de vitamina C supera por mucho a *A. arguta* y *A. deliciosa* con 700-1000 mg por cada 100 g de fruta (Stik y Cahn 2000). Según García et al. (2014), la variedad comercial Szymanowski es autofertil, de color amarillo verdoso y con un peso de 3-4 g.



Figura 7: Frutos de *Actinidia arguta*.

FUENTE: Tomado de Huang 2016c:221.

2.2.3. Cultivo de kiwi

Los factores ambientales que más influyen en el cultivo de kiwi, vienen dados por el suelo para un buen desarrollo radicular y el clima que influye en la producción y desarrollo de brotes.

2.2.3.1. Requerimientos de suelo

Debido al hábito de crecimiento radicular concentrado y la alta demanda de oxígeno (García et al. 2015); este cultivo es exigente en el tipo de suelo y el manejo de materia orgánica (Kulczewski et al. 2010).

Según Kulczewski et al. (2010), el cultivo de kiwi en Chile crece en suelos a concentraciones 2 a 5 por ciento de materia orgánica, siendo inferiores a los niveles de los países de Nueva Zelanda e Italia. El suelo debe presentar características de permeabilidad, por lo que un suelo arcilloso no favorecerá la ventilación (García et al 2015); dentro de las cuales se tienen 2 tipos de suelos para el desarrollo de la planta. El suelo tipo aluvial posee texturas gruesas y finas, haciendo un suelo estratificado. El suelo trumao, de origen volcánico, posee altos contenidos de materia orgánica, haciéndolo un buen suelo para el cultivo de esta especie (Kulczewski et al. 2010).

El kiwi suele ser sensible al Calcio y carbonatos, ya que estos al incrementar el pH por encima de 7.3 traen consigo problemas nutricionales. También es preferible que el suelo tenga una conductividad eléctrica de 1.0 mmhos/cm, para favorecer el intercambio de iones (CIREN 1998).

2.2.3.2. Requerimientos climáticos

El kiwi necesita un periodo de crecimiento de 240 a 260 días sin heladas. En primavera, las temperaturas menores a 1.5°C dañan los brotes y frutos. En otoño temperaturas menores a 3°C dañan a los troncos de plantas jóvenes. En invierno la planta es capaz de soportar hasta -20°C (CIREN 1998).

La planta entra en inactividad vegetativa cuando la temperatura entra por debajo de los 7°C. Esta inactividad vegetativa es causada por el frío invernal, siendo necesaria acumulación de horas frío (h/f) entre 600 a 800 h/f al año. De no cumplir las h/f necesarias, puede influir en el desarrollo de brotes fructíferos (García et al. 2015).

La humedad relativa óptima para el cultivo de kiwi oscila entre 70 a 80 por ciento, sin embargo, esta planta al estar por debajo del 60 por ciento pierde drásticamente agua por transpiración, deteniendo así su crecimiento (García et al 2015).

2.2.4. Zonas de producción

Según la Organización Internacional para la Alimentación y la Agricultura de las Naciones Unidas (FAO, por sus siglas en inglés), los principales países productores de kiwi a nivel mundial para el año 2016 fueron China abarcando el 54 por ciento, seguido de Italia con un 13 por ciento y Nueva Zelanda con un 11 por ciento. Sin embargo, no todos estos países son principales exportadores. La Organización Internacional de Comercio (ITC, por sus siglas en inglés), indica que los principales países exportadores de kiwi para el año 2017 fueron Nueva Zelanda, Italia, Bélgica y Chile (Figura 8).

La producción de kiwi varía dependiendo de la ubicación en los hemisferios; siendo muy diferente la época de producción del hemisferio sur ante el hemisferio norte. En el hemisferio sur, además de Nueva Zelanda y Chile, también se produce en Argentina, Uruguay, Brasil, Australia y Sudáfrica. En el hemisferio norte, además de China e Italia, también se producen en Estados Unidos, Corea del Sur, Japón y algunos países europeos como España (García et al. 2015). La producción de kiwi en el hemisferio sur es exportada al hemisferio norte durante los meses de junio a diciembre, mientras que la producción en el hemisferio norte ayuda a abastecer al hemisferio norte en meses sobrantes.

Países como Japón, EEUU, Italia y Francia decidieron introducir esta fruta entre la década de 60-70. Ahora ellos se convirtieron en países consumistas, y son capaces de exportar dicha fruta (García et al. 2015).

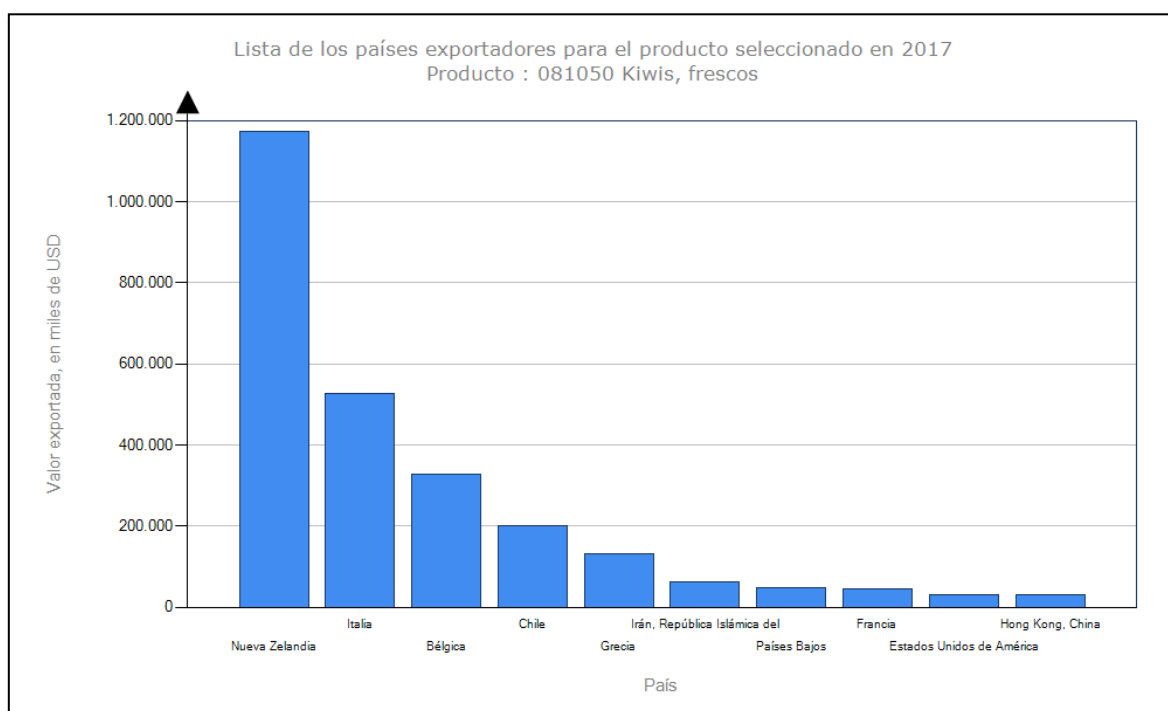


Figura 8: Principales países exportadores de kiwi a nivel mundial.
FUENTE: Tomado de ITC 2017.

2.2.5. Cultivo de tejidos vegetales in vitro

Se define como un conjunto de herramientas y técnicas que utilizan un explante (parte separada de la planta), pudiendo ser células, protoplastos, esquejes, yemas, hojas o cualquier otra parte u órgano de la planta; para el cultivo en un medio artificial bajo condiciones ambientales controladas (Mroginski 2010). Permite obtener plantas libre de todo virus, bacteria o fitopatógeno y con un alto valor del recurso genético (Segretín 2006, Carrión 2017). Esta capacidad de regeneración se debe a la totipotencia celular en todas las plantas, generando un individuo completo y manteniendo la información genética idéntica a la planta donadora del explante (Kieran et al. 1997). También la importancia de esta técnica es alterar el metabolismo, crecimiento y desarrollo de la planta (Hussain et al. 2012; Thorpe 2007), siendo la producción de metabolitos de importancia una de estas aplicaciones (Morales et al. 2016).

El objetivo de esta herramienta es usar para el estudio de problemas básicos y aplicados a la biología de plantas, además de ser una herramienta biotecnológica (Roca y Mroginski 1991) que permite obtener miles de plántulas de igual tamaño y edad (Noroña 2010).

2.2.5.1. Micropropagación

Herramientas que se utiliza para la propagación *in vitro* de material vegetal élite. En la etapa de micropropagación *in vitro*, se definen cuatro pasos metodológicos.

- Selección del material vegetal: El material a escoger debe contar con ciertas características que permitan una buena calidad del explante (órganos jóvenes y con bajas concentraciones de patógenos (Olmos et al. 2002).
- Establecimiento: Se seleccionan, aíslan y esterilizan los explantes. Generalmente la desinfección superficial usa etanol e hipoclorito de sodio (Marana et al. 2009); tras la desinfección se establece en un medio de cultivo (Olmos et al. 2002).
- Multiplicación: Se busca el desarrollo y proliferación de brotes; por lo general se suelen utilizar medios de cultivo suplementado con fitohormonas que ayudan a la mayor producción de brotes (Debergh y Maene 1981; Olmos et al. 2002).
- Enraizamiento y aclimatación: Si se ha obtenido brotes a partir de callos, aquellos brotes son colocados en un medio con fitohormonas que permitan el enraizamiento y posteriormente aclimatarlas. En otros casos, las plantas obtenidas en la etapa de multiplicación ya tienen raíces y por lo tanto pasan a la etapa de aclimatación. La aclimatación es la etapa más difícil, debido a que las plantas entran a un estado de estrés por transpiración acelerada, que influye mucho en la tasa de supervivencia (Olmos et al. 2002).

Algunos problemas presentes en la micropropagación, suelen dificultar el desarrollo del explante *in vitro*. Las especies leñosas son recalcitrantes y difíciles de regenerar (difíciles de propagar) (Olmos et al. 2002). Otros factores que influyen negativamente son la oxidación y la contaminación. La oxidación es un fenómeno de ennegrecimiento causado por la oxidación de compuestos fenólicos liberados por la planta; suelen ser fitotóxicos causando la muerte (George y Klerk 2008). En algunos casos el explante *in vitro* puede presentar problemas de contaminación, debido a que posee bacterias u hongos endófitos (Bhojwani y Dantu 2013).

2.2.5.2. Medio de cultivo

El medio de cultivo es definido como una formulación de sales inorgánicas y compuestos orgánicos requeridos para la nutrición y manipulación de los cultivos, el medio de cultivo más utilizado es MS (Murashige y Skoog 1962) el cual fue desarrollado inicialmente para el crecimiento de callos de tabaco y en la actualidad se emplea como medio de cultivo

basal para un grupo importantes de plantas de interés para la alimentación y con fines ornamentales. El medio formulado por Lloyd y McCown (1981) conocido como Woody Plant (WP) es usualmente recomendado para el desarrollo de explantes de plantas leñosas. (Mroginski et al. 2010).

Los componentes de los medios de cultivo generalmente se agrupan en cinco clases de compuestos: macro y micro elementos; fuente de carbono (generalmente sacarosa); constituyentes orgánicos; y en algunos casos reguladores del crecimiento.

El medio de cultivo usado en esta investigación es el medio MS/2 que corresponde al medio MS a mitad de concentraciones en sales y constituyentes orgánicos (ANEXO 1), ya que múltiples autores mencionan este medio de cultivo como enraizador para el género *Actinida*.

Macronutrientes

Son macronutrientes todos aquellos elementos minerales que la planta requiere en grandes cantidades, ya que participan en la formación de la estructura vegetal, siendo entre otros: Nitrógeno (N), Fosforo (P), Azufre (S), Calcio (Ca) y Potasio (K) (Abdelnour y Vincent 1994).

El medio MS contiene concentraciones relativamente altas de Nitrógeno en forma de nitrato o amonio, Potasio en forma de nitrato de potasio, y Fósforo en forma de fosfatos (Roca y Mroginski 1991).

Micronutrientes

Los micronutrientes son elementos minerales que la planta requiere en pequeñas cantidades, ya que participan como catalizadores de reacciones mayores, siendo entre ellos: Hierro (Fe), Manganeseo (Mn), Cloro (Cl), Cobre (Cu), Boro (B), Zinc (Zn), Iodo (I), Níquel (Ni), y Molibdeno (Mo); los cuales se utilizan a pequeñas concentraciones (Abdelnour y Vincent 1994).

El hierro en su forma elemental tiende a precipitar (Murashige y Skoog 1962), por ello se adiciona conjuntamente con un agente quelante (Na_2EDTA), que lo hace disponible en un amplio rango de pH (Roca y Mroginski 1991).

Constituyentes Orgánicos

Se denominan constituyentes orgánicos a todos los compuestos o elementos que se adicionan a los medios de cultivo y que contienen dentro de su conformación al carbono con enlaces covalentes carbono-carbono y carbono-hidrógeno. Dentro de este grupo se encuentran las vitaminas y aminoácidos. Dentro de las vitaminas que se adicionan al medio de cultivo, la tiamina es la única imprescindible para el buen crecimiento de los cultivos (Mroginski et al. 2010). Dentro de las vitaminas que se utilizan en menor frecuencia se tienen al ácido ascórbico, fólico, nicotínico, pantoténico, tocoferol (vitamina E), riboflavina y myo-inositol; y estos dependerán del tipo de cultivo que se utilice (Saad y Elshahed 2012).

Fuente de Carbono

Se denomina fuente carbonada a aquel elemento que se adiciona al medio de cultivo y que provee de energía o fuente energética para el desarrollo de los explantes. Esto es debido a que las plantas en condiciones *in vitro* pierden su capacidad autotrófica, y es por ello que se necesita agregar al medio una fuente de carbono, siendo la más común la sacarosa. La concentración de sacarosa que se agrega a los medios de cultivo oscila entre 2-5 por ciento; y puede ser reemplazada por otros azúcares conocidos como: fructosa, galactosa o maltosa (Roca y Mroginski 1991).

2.2.5.3. Hormonas vegetales

Las hormonas vegetales o fitohormonas, son mensajeros químicos que a concentraciones muy bajas cumplen funciones de regulación, metabolismo, crecimiento y morfogénesis. Sin embargo, también se ha encontrado otros tipos de fitohormonas que actúan como señalizadores y que tienen efectos en la morfología, resistencia a patógenos y defensa ante los animales herbívoros; de los cuales los identificados son los Brasinoesteroides, Ácido jasmónico, Ácido salicílico y el polipéptido Sistemina (Taiz y Zeiger 2006).

En la actualidad existen cinco grupos de hormonas conocidas como: Auxinas, Giberelinas, Citoquininas, Etileno y Ácido Abscísico; siendo el etileno la fithormona que no cumple la función de desarrollo de la planta (Campbell et al. 2001).

Dentro del cultivo *in vitro*, las hormonas que más se utilizan son las auxinas y citoquininas (Abdelnour y Vincent 1994); también suelen utilizarse giberelinas y ácido abscísico. El tipo de hormona y la concentración a usar dependerá del tipo de planta con la que se trabaja (Morales et al. 2016).

Auxinas

Las auxinas son una familia de sustancias químicas que tienen la capacidad de regular el crecimiento, la división celular y la diferenciación de raíces. Las auxinas más utilizadas son: AIA (Ácido Indol-3- Acético), ANA (Ácido α - Naftalen Acético), 2,4-D (Ácido 2,4-Diclorofenoxiacético), IBA (Ácido Indol Butírico). El ácido indol-3- acético o AIA es la auxina más conocida, es una hormona natural que se produce en los ápices de los tallos, meristemas y hojas jóvenes de yemas terminales (Mroginski et al. 2010).

La auxina biológicamente activa encontrada en la especie modelo *Arabidopsis thaliana* es el AIA, sin embargo, existen otras formas de auxinas en plantas como el IBA que cumplen la misma función de crecimiento de tallo y desarrollo de radicular a concentraciones establecidas. También se han sintetizado hormonas como el ANA, entre otros, con la finalidad de utilizarlos como enraizadores en cultivo de tejidos. (Garay et al. 2014)

El mecanismo de acción de las auxinas permite la plasticidad de la pared celular, por ende, la expansión de la célula. La elongación se produce cuando las auxinas se unen a receptores de la membrana plasmática desencadenando varias reacciones que acidifican el espacio entre membrana y pared celular. La acidificación activa proteínas que rompen los enlaces cruzados de celulosa haciendo elástica a la pared celular ante un aumento de la presión de turgencia. (Llorente 2000)

Según Taiz y Zeiger (2006), el modelo de hormona que se usa para la biosíntesis es AIA; donde el precursor es el aminoácido Triptófano (Trp). Existen varias vías de síntesis de AIA, dentro de las cuales se tienen cuatro. La primera vía es la del ácido indol-3 pirúvico (IPA) siendo la más común de todas las vías; en la cual ocurre una reacción de desaminación, seguida de una descarboxilación y finalmente oxidado por una deshidrogenasa. La siguiente vía es la de la triptamina (TAM), implicando en primera instancia una descarboxilación, seguida de una desaminación y finalmente oxidado por una deshidrogenasa. La tercera vía es la del indol-3-acetonitrilo (IAN), en la cual el triptófano es convertido en indol-3-acetaldoxina y luego a indol-3-acetonitrilo, donde luego se transforma a AIA a través de una nitrilasa. Existe una cuarta ruta indol-3-acetamida (IAM), que no es usada por las plantas; donde solo las bacterias patógenas *Pseudomonas savastoni* y *Agrobacterium tumefaciens* la utilizan. Para ello hacen uso de las enzimas triptófano monooxigenasa y la IAM hidrolasa para obtener AIA.

Hormonas de enraizamiento

Dentro de la última etapa de micropropagación, la del enraizamiento suele utilizar hormonas como IBA y ANA debido a su amplia disponibilidad.

- IBA: Es un tipo de hormona endógena de la planta, que usado en el cultivo *in vitro* a concentración de 0.02-0.2 mg/litro promueve el enraizamiento (Olmos et al. 2004).
- ANA: Es una auxina sintética, que suele usarse como enraizador a concentraciones de 1-10 mg/litro en el cultivo *in vitro* (Roca y Mroginski 1993).

Para el enraizamiento de kiwi, autores como Radice y Caso (1991), Scalize et al. (2001) y Lozano (2017) emplean IBA en sus experimentos ya que resultan fácilmente enraizar a estas plantas en un periodo de 30 días. Otros autores como Tanaka et al. (1997) y Adiyaman et al. (2007) emplean ANA para el enraizamiento de las plantas de kiwi

Pelos radiculares

Los pelos radicales o radiculares son proyecciones tubulares y largas de las células epidérmicas de la raíz, cuya principal función es captar agua y nutrientes minerales del suelo (Peret et al. 2009).

El proceso de diferenciación es señalizado por células del córtex, que por medio de un conjunto de proteínas y hormonas inducen a la formación y elongación del pelo radicular (Maldonado et al. 2015).

Maldonado et al. (2015) menciona que las hormonas propias responsables de la regulación de la formación de pelos radiculares son las auxinas y etileno independientemente. En el cultivo *in vitro* se puede inducir a la formación de pelos radiculares a través de la combinación de auxinas y citoquininas (Ortíz et al. 2017)

Dentro del enraizamiento *in vitro*, los pelos radiculares son importantes para la aclimatación, especialmente si se habla del cultivo de meristemas (Roca y Mroginski 1991).

Citoquininas

Son encargadas de la regulación de varios procesos celulares, entre ellos la división celular en el crecimiento y desarrollo (Taiz y Zeiger 2006). Dentro de las citoquininas que más se utilizan actualmente, están: Kinetina (6-furfuril-aminopurina), Zeatina (6-4-hidroxi- e - metil but-trans-2-enilamino-purina) y BAP (6-N-Bencilaminopurina) (Roca y Mrongiski 1993).

La kinetina fue la primera citoquinina en ser descubierta al demostrar la inducción de la división celular en tabaco. Se demostró que era un derivado de la adenina (aminopurina), y esto se debe a la ruptura de ADN por acción del calor. Después de varios años de ser descubierta la kinetina, se descubrió otra sustancia con el mismo efecto, aislada del maíz, la zeatina. La zeatina es la hormona vegetal que predomina en plantas superiores. (Taiz y Zeiger 2006)

La hormona BAP es una citoquinina sintética que estimula la división celular; suele ser la hormona más eficiente y usada en el cultivo de tejidos debido a su disponibilidad. Las concentraciones usadas son de 0.2-2ppm; favoreciendo la formación de brotes por explante, mas no su elongacion. (Bhojwani y Dantu 2013)

La regulación de la morfogénesis esta dado por auxinas y citoquininas; por lo que una concentración mayor de citoquininas frente a auxinas induce la formación de brotes o yemas, mientras que una concentración mayor de auxina frente a citoquininas induce la formación de raíces (Machakova *et al.* 2008).

La biosíntesis de citoquininas comienza con la isomerización de isopentínil pirofosfato (IPP) obtenido de la ruta del mevalonato. Esta permite la reacción con adenosín monofosfato (AMP); quien luego sufre la remoción de un grupo fosfato y del azúcar ribosa para formar el intermediario isopentínil adenina que es precursor de las diferentes formas de citoquininas. (McGaw 1995)

Giberelinas

Su función principal es estimular la división celular incrementando el crecimiento del tallo de la planta. También reducen el periodo de la dormancia en semillas, estimula el desarrollo de algunas yemas, induce a la floración e influye en el cuajado del fruto (Taiz y Zeiger 2006).

Dentro de los tipos de giberelinas que se conocen, el ácido giberélico (GA₃) es muy usado en el cultivo de tejidos (Bhojwani y Dantu 2013).

Ácido abscísico

Es un antagonista a las demás hormonas, inhibiendo el crecimiento. Conlleva a respuestas fisiológicas en la abscisión de hojas y frutos, y el estrés hídrico (Bhojwani y Dantu 2013).

Etileno

Es la hormona gaseosa, que es producida por los tejidos en la maduración del fruto y cuando la planta entra en estado de estrés; ya sea por sequía, inundación o enfriamiento (Taiz y Zeiger 2006).

2.2.6. Aclimatación

Las plantas formadas en condiciones *in vitro*, crecen bajo un ambiente controlado y si son llevadas a su ambiente natural, pueden deshidratarse fácilmente y morir, por lo tanto, es muy importante que sean sometidas a un acondicionamiento previo llamado endurecimiento o aclimatación (Suárez 2011).

Después de transferir las plantas al ambiente *ex vitro*, estas deben modificarse para lograr la adaptación al nuevo ambiente, ya sea en el invernadero o en el campo, algunas posibles adaptaciones a las condiciones *in vitro* que inducen perturbaciones en las plantas que se están desarrollando, por ejemplo: alta humedad relativa, bajo o nulo intercambio gaseoso, escasez de CO₂ durante casi todo el período, producción de etileno y baja densidad fotosintética. Por otra parte, la anatomía de la hoja es influenciada por la luz y la humedad, diferenciándose anatómicamente de las originadas *in vivo* (Brainerd et al. 1981).

La aclimatación es un factor importante en la posterior supervivencia de la planta, ya que es una etapa crítica dentro del proceso, en la que se produce la mayor pérdida de plantas. En ella es importante comenzar reduciendo gradualmente la humedad relativa, para permitir con esto además del cierre estomático, una mejor formación de cutícula y disminuir la pérdida de agua. Por otra parte, para tener mejores resultados en el establecimiento *ex vitro* es necesario el desarrollo radicular *in vitro* (Pierik 1990).

El uso de cubiertas plásticas usadas como barrera o cubierta en el proceso de aclimatación, permiten reducir el efecto de deshidratación de las plantas provenientes de *in vitro* por parte del viento, así como la reducción de la pérdida de agua en el sustrato. En el caso de

plantas de vid, estas infraestructuras permiten la aclimatación durante un lapso de tres semanas con cubierta y una sin ella, con una humedad del 68 – 75 por ciento (Thomas 1998).

Durante el proceso de la aclimatación, se desarrollan dos fases: La fase de endurecimiento y la fase de vivero (Oviedo 2015).

La fase de endurecimiento utiliza plantas de *in vitro* que hayan sido enraizadas para su fácil obtención de elementos. En esta fase, la planta experimenta un cambio en los nutrientes; el descenso de los minerales obtenidos por el medio MS a un sustrato con materia orgánica y sales minerales. Según Pineda et al. (2012) esta fase puede durar 15 días, y las plantas deben encontrarse con una humedad relativa entre 80-93 por ciento, hasta los 30 días donde la humedad relativa oscila entre 60-70 por ciento; donde las plantas ya pueden pasar a la fase de vivero.

Esta es la última fase de aclimatación, la cual las plantas se desarrollan hasta alcanzar un tamaño prudencial, que permita un trasplante al campo. Estas plantas se desarrollan en un ambiente contra plagas y enfermedades, generando futuras plantas resistentes (Oviedo 2015).

III. MATERIALES Y METODOLOGÍA

3.1. Lugar de ejecución

La presente investigación se llevó a cabo en las instalaciones de los laboratorios del Centro de Investigación de Recursos Genéticos, Biotecnología y Bioseguridad (CIRGEBB) de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM).

3.2. Infraestructura del laboratorio

- Cuarto de siembra
Ambiente de 40 metros cuadrados de acceso controlado, aséptico en donde se ubican las cámaras de flujo laminar para realizar la micropropagación con el debido control de infecciones.
- Cuarto de cultivo o crecimiento
Ambiente controlado con un fotoperiodo de 8 horas de luz y 16 horas de oscuridad, temperatura de 22°C +/- 2°C e intensidad lumínica de 2200 Lux.
- Casa malla
Ambiente de 100 metros cuadrados cubierto con malla antiáfidos de 60 micras de poro, hecha a base de polietileno; que protege a las plantas del ingreso de insectos, y una malla rashell metálica al interior a una altura de 3 metros que protege de la radiación solar.

3.3. Materiales

Material vegetal

Para el desarrollo de esta investigación se utilizaron plántulas *in vitro* de kiwi verde variedad Hayward, que venían siendo micropropagadas por el CIRGEBB-UNALM. El protocolo de micropropagación fue desarrollado por el CIRGEBB en investigaciones llevadas a cabo con anterioridad. Las primeras plántulas introducidas por el CIRGEBB fueron obtenidas por germinación de semillas compradas en los EEUU, las que luego de obtenerse el medio de micropropagación, fueron propagadas y mantenidas en condiciones *in vitro*.

Materiales de laboratorio

- Probetas de 1000 ml y 100 ml
- Pipetas graduadas de 10 ml y 5 ml
- Beakers de 2000 ml y 1000 ml
- Micropipeta de 100-1000 μ l
- Puntas de micropipeta de 100–1000 ml
- Frascos de vidrio de 450 ml
- Placas Petri
- Pinzas
- Bisturíes
- Algodón
- Mechero
- Papel aluminio
- Pabilo
- Parafilm™

Medio de cultivo

- Murashige y Skoog (MS) (1992)

Soluciones Stock

- Ácido Naftalen Acético (ANA) 1000 ppm
- Ácido Indol Butírico (IBA) 1000 ppm
- Alcohol 70° y 96°
- Agua destilada

Materiales de campo

- Sustrato ARANMIX (Turba y perlita).
- Agua de pozo.
- Bolsas de almacigo de 0.8 L
- Bandejas antigoteo
- Caja de plástico PVC transparente
- Fungicida Cercobin 0.5 por ciento

Equipos

- Potenciómetro
- Destilador
- Estufa
- Autoclave
- Cámara de flujo laminar
- Balanza analítica
- Plato con agitador magnético
- Horno microondas
- Microscopio
- Refrigeradora -20°C

3.4. Metodología

3.4.1. Homogeneización de explantes

A partir de las plantas *in vitro* de kiwi variedad Hayward mantenidas por el CIRGEBB, se seccionaron esquejes como explantes, trabajando en forma aséptica. Dentro de una cámara de flujo laminar y con ayuda de una pinza y bisturí, fueron sembrados en medio de propagación exento de fitohormonas (MS/2), colocando 4 esquejes dentro de frascos de vidrio de 450 ml; todo en condiciones asépticas. Cada frasco conteniendo 4 esquejes, fueron incubados en el cuarto de crecimiento durante 45 días, periodo en el cual se observó el crecimiento de las plántulas, quedando listas para ser utilizadas en los experimentos de esta investigación.

3.4.2. Instalación del experimento

3.4.2.1. Preparación de los Tratamientos

Se prepararon los medios de cultivo para la instalación de los 5 tratamientos que formaron parte de la fase experimental:

- Medio 1: Medio MS/2 sin fitohormonas (Medio Control)
- Medio 2: Medio MS/2, suplementado con ANA 0.5 ppm.
- Medio 3: Medio MS/2, suplementado con ANA 1.0 ppm.
- Medio 4: Medio MS/2, suplementado con IBA 0.5 ppm.
- Medio 5: Medio MS/2, suplementado con IBA 1.0 ppm.

A todos los medios se le ajustó el pH (5.6), usando HCl o NaOH (1N). Luego, se le adicionó agar (HMEDIA, 7g), y se licuó el agar haciendo uso de un microondas. Finalmente, cada medio fue dispensado en frascos de vidrio de 450 ml, a razón de 50 ml por frasco. Se selló el frasco con papel aluminio y papel periódico, antes de ser autoclavado a 15 lb de presión por 20 minutos.

5.4.2.2. Micropropagación

A partir las plántulas obtenidas en el periodo de homogeneización, se procedió a micropropagar en los medios que corresponden a los tratamientos establecidos. La siembra se hizo en condiciones de absoluta asepsia, en cámara de flujo laminar. Las plántulas fueron colocadas sobre placas Petri estériles, y con ayuda de una pinza y bisturí se procedió a realizar cortes dejando esquejes con 2 yemas. En cada frasco conteniendo los medios de cultivo, fueron sembrados 3 esquejes. Los tratamientos fueron llevados luego al

cuarto de crecimiento en donde se dejaron desarrollar y tomar las evaluaciones planificadas.

Enraizamiento y morfología radicular

Durante el periodo de desarrollo y crecimiento, se realizaron observaciones y mediciones de la raíz.

- A los 30 días: Se escogieron en forma aleatoria una plántula de cada uno de los cinco frascos que conformaron las repeticiones de cada tratamiento. Esto constituyó cinco plantas a evaluar; a cada una de ellas se le cortó la raíz, se le tomó el peso fresco y luego de 48 horas, el peso seco. La deshidratación se hizo en una estufa a 30°C durante 48 horas.
- A los 60 días: De igual forma, se escogieron en forma aleatoria una plántula de cada uno de los cinco frascos que conforman las repeticiones de cada tratamiento. Esto constituyó cinco plantas a evaluar; para ello, a cada una de ellas se le cortó la raíz, se le tomó el peso fresco y el peso seco.
- Adicionalmente, con ayuda de un microscopio a un aumento de 10x, se observó la presencia o ausencia de pelos radiculares.

Unidad experimental

Se utilizó como unidad experimental cada explante sembrados en frascos de vidrio de 450 ml de capacidad, los cuales contenían 40 ml de medio de cultivo descrito para cada tratamiento.

Análisis estadístico

El experimento fue analizado con un diseño completamente al azar (DCA). Donde se utilizó la prueba de Análisis de la Varianza (ANOVA), para evaluar la existencia de diferencias significativas.

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij},$$

Donde:

Y_{ij} = Peso fresco o seco, a los 30 o 60 días.

μ = Promedio del peso fresco o seco, a los 30 o 60 días.

τ_i = Efecto de la i -ésima concentración de fitohormona en el medio.

ϵ_{ij} = Error experimental.

Cuando se encontraron diferencias significativas, se realizó la prueba Test de Tukey, que consistió en la comparación entre tratamiento en pares, demostrando así los tratamientos que son diferentes significativamente.

El análisis estadístico usado fue llevado a cabo usando el programa Infostat 2017. Los análisis de los datos que cumplieron el supuesto, fueron realizados a un nivel de confianza del 95 por ciento ($\alpha = 0.05$).

5.4.2.3. Aclimatación

Las plantas desarrolladas *in vitro* por el periodo de 60 días, fueron extraídas, lavadas con agua potable descartando todo resto de medio de cultivo, colocadas dentro de frascos de vidrio de 450 ml con 20 ml de agua destilada y tapadas con papel aluminio.

Estos frascos fueron colocados dentro de la casa de malla donde permanecieron por un periodo de siete días. Cumplido este tiempo las plantas fueron trasplantadas a bolsas de almacigo de 0.8 L de volumen con sustrato ARANMIX previamente tratado con Cercobin 0.5 por ciento (fungicida) (ANEXO 3). Se humedeció el sustrato con agua destilada y se colocaron las bosas dentro de bandejas antigoteo. Luego se cubrió toda la bandeja con una caja de plástico de PVC transparente, donde permaneció en esa condición por un periodo de 15 días. Transcurrido los 15 días se retiró la caja de plástico de PVC transparente exponiendo las plantas al ambiente por otros 15 días.

Supervivencia ex vitro

Al finalizar el periodo de 30 días de las plantas en casa de malla, se evaluó el número de plantas sobrevivientes.

Unidad experimental

Se utilizaron como unidades experimentales al conjunto de 5 explantes desarrollados *in vitro* al cabo de 60 días en los medios de cultivo descritos como tratamientos.

Análisis estadístico

El experimento fue analizado con un diseño completamente al azar (DCA). Donde se utilizó la prueba de Análisis de la Varianza (ANOVA), para evaluar la existencia de diferencias significativas.

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij},$$

Donde:

Y_{ij} = Porcentaje de supervivencia de la planta a los 30 días de aclimatadas.

μ = Promedio de plantas sobrevivientes a los 30 días.

τ_i = Efecto de la i -ésima concentración de fitohormona en el medio.

ϵ_{ij} = Error experimental.

En el caso de haber diferencias significativas, se realizó la prueba Test de Tukey, que consistió en la comparación entre tratamiento en pares, demostrando así los tratamientos que son diferentes significativamente.

El análisis estadístico usado fue llevado a cabo usando el programa Infostat 2017. Los análisis de los datos que cumplieron el supuesto, fueron realizados a un nivel de confianza del 95 por ciento ($\alpha = 0.05$).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1 Desarrollo y Morfología Radicular in vitro

A partir de los 15 días de cultivados los explantes, se pudo apreciar la aparición de yemas radiculares, las mismas que fueron creciendo paulatinamente hasta alcanzar un buen desarrollo, es decir las plántulas alcanzaron a mostrar una buena masa radicular.

4.1.1 Evaluación del desarrollo radicular a los 30 días de cultivados los explantes

Como puede observarse en la Tabla 3, los tratamientos suplementados con fitohormonas (ANA o IBA) presentaron un mayor peso fresco radicular respecto al control. Encontrándose que el mayor valor tanto para peso fresco como para peso seco de las raíces se alcanzó en el tratamiento cinco, es decir cuando el medio de cultivo estuvo suplementado con IBA 1.0 ppm.

Tabla 3: Valores promedio para peso fresco y peso seco de las raíces a los 30 días de cultivados los explante *in vitro*.

Tratamiento	Peso fresco (g) *	Peso seco (g) *	Pelos radiculares
Control (MS)	0.1384 A	0.0106 A	Ausencia
MS/2 + ANA 0.5 ppm	0.1890 B	0.0167 A B	Ausencia
MS/2 + ANA 1.0 ppm	0.1918 B	0.0191 B C	Ausencia
MS/2 + IBA 0.5 ppm	0.2122 B	0.0245 C D	Presencia
MS/2 + IBA 1.0 ppm	0.2264 B	0.0301 D	Presencia

FUENTE: Elaboración propia.

* Letras diferentes indican diferencias significativas ($p > 0.05$)

Con respecto a las observaciones realizadas, en cuanto a la formación de pelos radiculares, éstas se observaron haciendo uso de un microscopio estereoscopio. Dichas estructuras se encontraban presentes en los tratamientos: MS/2+IBA 0.5 ppm y MS/2+ IBA 1.0 ppm. (Figura 9)

A través del análisis de la varianza y el test de Tukey, para un nivel de significancia de 0.05, se encontró que no existe diferencias significativas entre los diferentes tratamientos empleados, pero todos ellos superan al medio control, para la variable peso fresco a los 30 días de cultivados. (Anexo 5)

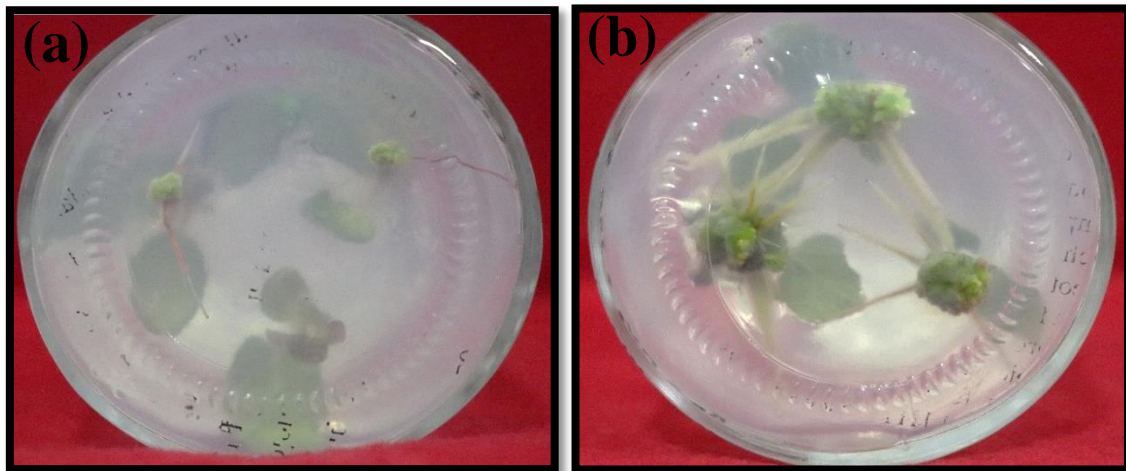


Figura 9: Desarrollo radicular de kiwi verde a los 30 días de cultivado. (a) Control.
(b) MS/2 + IBA 1.0 ppm.

FUENTE: Elaboración propia.

En relación a la variable peso seco, a los 30 días de cultivados los explantes, podemos observar que existen diferencias significativas a un nivel de 0.05 de significancia, entre los tratamientos y de éstos comparados con el medio control. Se puede observar dos agrupamientos, un agrupamiento está representado por los tratamientos “MS+ANA” y el segundo agrupamiento representado por los tratamientos “MS+IBA”. Ver ANEXO 5.

Podemos igualmente indicar, de acuerdo a los resultados observados, que el tratamiento “MS/2 + IBA 1.0 ppm” resulta ser mejor enraizador a los 30 días de cultivados los explantes *in vitro*, con un peso seco promedio de 0.03g, siendo éste el mayor valor entre los tratamientos (Figuras 10 y 11).

Con los resultados obtenidos se pudo identificar que el tratamiento con IBA a 1.0 ppm presenta mayor cantidad de masa vegetal radicular a los 30 días (Figuras 11); considerándose un buen enraizador para esta variedad de kiwi. Este resultado también fue obtenido por Lozano (2017), quien considera la fitohormona IBA 1.0 ppm como buen enraizante para esta variedad de kiwi. Sin embargo, dicho autor incorpora en el medio de cultivo carbón activado a una concentración de 25 mg/L o ppm, registrando mejores resultados en el enraizamiento. Estos resultados probablemente se deben a que el carbón activado es usado para adsorber sustancias tóxicas o inhibitorias del medio de cultivo, que usualmente son generados por el autoclavado de los medios o son secretados por la misma planta, como son los compuestos fenólicos (Roca y Mroginski 1991).

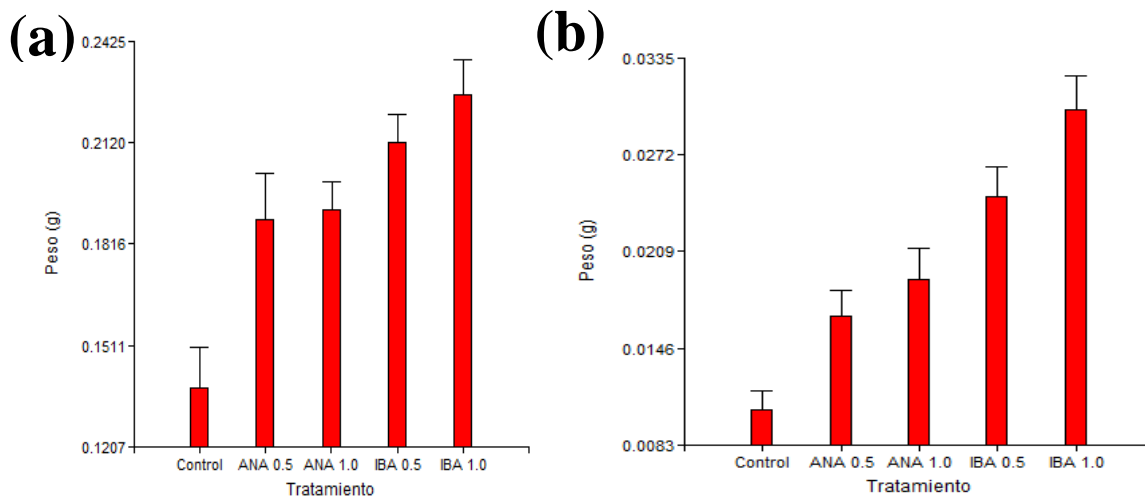


Figura 10: Promedios de los tratamientos para la evaluación a los 30 días. (a) Peso fresco. (b) Peso seco.

FUENTE: Elaboración propia.

Autores como Radice y Caso (1991), y Scalize et al. (2001) utilizaron IBA como enraizadores *in vitro*, habiendo obtenido los mejores resultados a una concentración de IBA de 0.1 ppm luego de 30 días de cultivados. Resultado que difiere con los obtenidos en la presente investigación, probablemente debido a que los autores mencionados aíslan los brotes generados por los explantes provenientes de la acción de citoquininas para luego enraizarlas, mientras que en la presente investigación es el explante quien desarrolla parte aérea y radicular simultáneamente.

Con respecto al uso de fitohormona ANA, Tanaka et al. (1997) reporta haber obtenido los mejores resultados en el enraizamiento utilizando esta hormona a una concentración de 1.0 ppm al cabo de 30 días de cultivados los explantes, mientras que Adiyaman et al. (2007) reportan un mejor enraizamiento a la misma concentración, pero al cabo de 42 días de cultivados los explantes. Los resultados mencionados por los autores son diferentes a los obtenidos en la presente investigación, debido a que no se han identificado diferencias significativas de los dos tratamientos de ANA establecidos (ANA 0.5 ppm y ANA 1.0 ppm), evaluados a los 30 días de cultivados los explantes (Figura 11).

Si bien los autores mencionados utilizaron como variables longitud de las raíces y número de raíces, y el presente experimento utilizó las variables peso fresco y peso seco; denotando el mismo efecto.

4.1.2 Evaluación del desarrollo radicular a los 60 días de cultivados los explantes

A los 60 días de cultivado los explantes, estos mostraron un mayor crecimiento radicular (ANEXO 4.1), pudiéndose apreciar con claridad las diferencias entre los tratamientos suplementados con fitohormonas (Figura 12). Además, fue posible apreciar la aparición de pelos radiculares. Se cuantificó el peso de las raíces tanto en fresco como en seco y se identificó la presencia o ausencia de pelos radiculares (Tabla 4).

Tabla 4: Valores promedio para peso fresco y peso seco de las raíces a los 30 días de cultivados los explante *in vitro*.

Tratamiento	Peso fresco (g)	Peso seco (g)	Pelos radiculares	Coloración
Control (MS/2)	0.2123 A	0.0150 A	Ausencia	Marrón claro y rojo
MS/2+ANA 0.5 ppm	0.3843 B	0.0242 A	Presencia	Marrón claro y rojo
MS/2+ANA 1.0 ppm	0.4629 B C	0.0442 B	Presencia	Marrón claro
MS/2+IBA 0.5 ppm	0.5804 C	0.0549 B	Presencia	Marrón oscuro
MS/2+IBA 1.0 ppm	0.6047 C	0.0712 C	Presencia	Marrón oscuro

FUENTE: Elaboración propia.

Se observó con mucha claridad la diferencia de los tratamientos comparados al medio control.

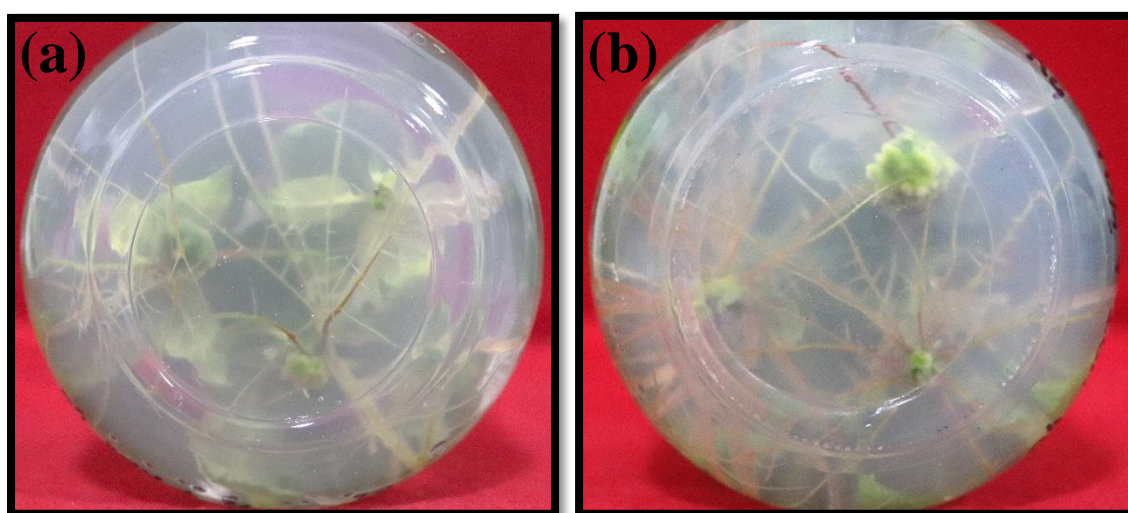


Figura 11: Comparación en el desarrollo radicular de kiwi verde a los 60 días.

(a) MS/2 + ANA 1.0 ppm. (b) MS/2 + IBA 1.0 ppm

FUENTE: Elaboración propia

En cuanto a peso fresco y peso seco, se observó que ambas fitohormonas produjeron incremento en el peso, y existe una progresión de aumento al incrementar la concentración de las mismas, siendo los valores superiores en los tratamientos que presentaron IBA. Ver Figura 16.

Otra observación registrada en los tratamientos suplementados con fitohormonas fue la presencia de pelos radiculares (Figura 13).

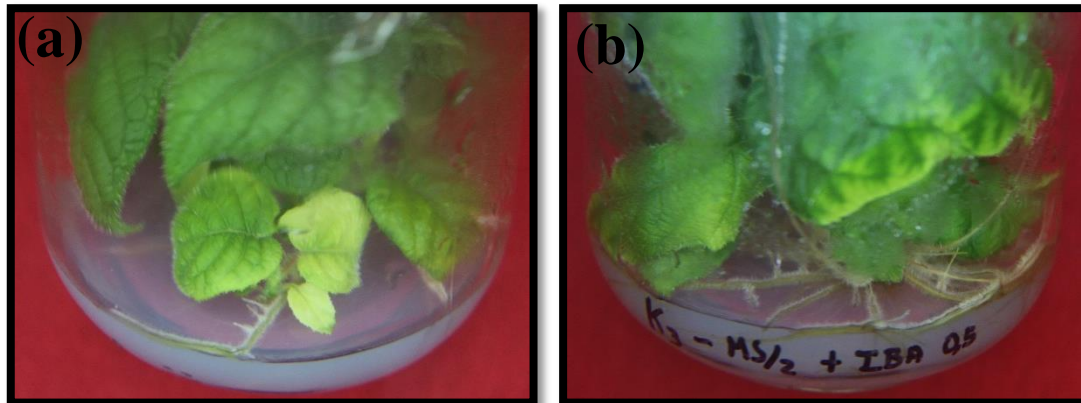


Figura 12: Pelos radiculares en kiwi verde a los 60 días. (a) MS/2 +ANA 1.0 ppm.
(b) MS/2 + IBA 0.5 ppm.

FUENTE: Elaboración propia.

Se pudo apreciar que en todos los tratamientos evaluados a los 60 días, los explantes presentaban pelos radiculares, mientras que las plántulas desarrolladas en los medios control no.

Se realizaron observaciones de los pelos radiculares bajo microscopio estereoscópico a un aumento de 10X (ANEXO 6.6); comprobándose que en el medio control no se observaban pelos radiculares, versus que estos si se encontraban presentes en los medios suplementados con fitohormonas, ver Figura 14.

Al realizar el análisis de variancia y la prueba de Tukey de los datos obtenidos para peso seco y peso fresco a los 60 días de cultivados, se encontró claras diferencias significativas entre los tratamientos. Se puede observar que ambas fitohormonas inducen la formación de raíces, siendo el IBA que tiene un mayor efecto inductor, asimismo que se incrementa la masa radicular conforme se incrementa la concentración de las fitohormonas. Ver ANEXO

5.3

Para la variable peso fresco, a los 60 días de cultivados los explantes, se observó que los tratamientos “ANA 0.5 ppm” y en conjunto “IBA 1.0 ppm, IBA 0.5 ppm y ANA 1.0 ppm” inducen igual respuesta a la formación de raíces, superando visiblemente al medio control, ver ANEXO 5.3. La variable peso seco, a los 60 días de cultivados los explantes mostró que el tratamiento que incorpora “IBA 1.0 ppm” muestra mayores valores comparados a los otros tratamientos, ver ANEXO 5.4 y Figura 16.



Figura 13: Presencia de pelos radiculares usando microscopio con aumento 10X.
(a) Control. (b) MS/2 + ANA 1.0 ppm. (c) MS/2 + IBA 1.0 ppm.

FUENTE: Elaboración propia.

Los resultados encontrados en la presente investigación coinciden con los realizados por Lozano (2017) quien obtuvo mejores resultados al utilizar IBA a 1.0 ppm; sin embargo, el tiempo de evaluación por dicho autor es de 30 días por lo que puede corroborar que el efecto perdura a los 60 días de cultivados los explantes.

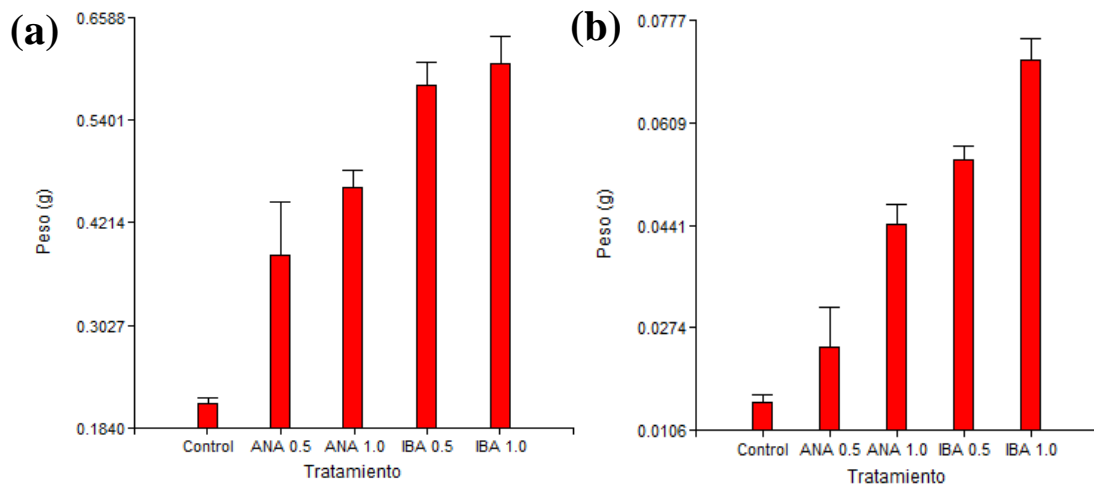


Figura 14: Promedios de los tratamientos para la evaluación a los 60 días. (a) Peso fresco.
(b) Peso seco

FUENTE: Elaboración propia.

Por el contrario, Adiyaman et al. (2007), encontraron mejor enraizamiento usando ANA a 1.0 ppm luego de un periodo de 42 días, resultado que es factible comparar entre el tratamiento Control, ANA 0.5 ppm y ANA 1.0 ppm, comprobándose que es mejor este último (Figura 16). Sin embargo, al comparar el efecto entre esta hormona e IBA, resulta ser IBA la que mejor resultado en enraizamiento presentó.

Mohan y Katsuaki (2003) menciona que en el proceso de enraizamiento resultó mejores aquellos medios suplementados con ANA e IBA a una concentración de 0.2 ppm. Siendo muy diferente a los utilizados en esta investigación; a pesar de no utilizar la misma concentración de hormonas se pudo diferenciar claramente que el efecto tanto de ANA como IBA son totalmente diferentes.

Con respecto a la formación de pelos radiculares, se encontró que estos se formaron en aquellos tratamientos suplementados con ANA (0.5 y 1.0 ppm) e IBA (0.5 y 1.0 ppm) a los 60 días. La aparición de estas estructuras es consecuencia de la acción de auxinas, específicamente ANA e IBA como lo es mencionado por Gómez et al. (2009), quienes también obtuvieron pelos radiculares, pero a distintas concentraciones. Sin embargo, otros autores como Predroso et al. (1992), indican el desarrollo de pelos radiculares usando Ácido Indol Acético a 0.05 ppm en la variedad de kiwi verde Hayward, dando a entender que la aparición de pelos radiculares en esta variedad es provocada también por otros tipos auxinas.

Otra diferencia encontrada es el tiempo de aparición de pelos radiculares; estos se observan a partir del día 30 de cultivados los explantes para los tratamientos suplementados con IBA (0.5 y 1.0 ppm), mientras que su presencia se nota a los 60 días de cultivado el explante en los tratamientos que presentan ANA (0.5 y 1.0 ppm). Sin embargo, debe precisarse que los pelos radiculares son estructuras muy frágiles ya que luego de los 60 días de cultivados los explantes, se observa el colapso de las estructuras, probablemente debido a la desecación del medio, coincidiendo con lo reportado por Peret et al. (2009).

La coloración de las raíces determinó el estado de estrés de la planta. Por lo que aquellas raíces que presentaban coloración marrón clara y/o rojiza; encontrado en el tratamiento Control y los tratamientos suplementados con ANA (0.5 y 1.0 ppm); presentaban células jóvenes o en estadios más tempranos; por ende, menos estrés. A comparación de las raíces de coloración marrón oscuro, encontrado en los tratamientos suplementados con IBA (0.5 y 1.0 ppm); que podrían presentar suberina en sus tejidos, debido al colapso o muerte de los pelos radiculares.

4.2 Supervivencia ex vitro

Se realizó la observación de las plantas al finalizar los 30 días de aclimatadas, hallando consigo el porcentaje de supervivencia para cada concentración de fitohormona (Tabla5) (ANEXO 4.2). Se observó que el tratamiento suplementado con “IBA 0.5 ppm” y “ANA 1.0 ppm” (Figura 17), mostraron mayor porcentaje de supervivencia entre los tratamientos al cabo de 30 días de aclimatadas; comparado con el control, que presentó un menor porcentaje de supervivencia entre los tratamientos.

Tabla 5: Evaluación de la supervivencia ex vitro después de 60 días in vitro.

Tratamiento	Supervivencia (%)
Control (MS/2)	26.67 A
MS/2+ANA 0.5 ppm	33.3 A
MS/2+ANA 1.0 ppm	80.00 A B
MS/2+IBA 0.5 ppm	86.667 B
MS/2+IBA 1.0 pm	60.00 B

FUENTE: Elaboración propia.

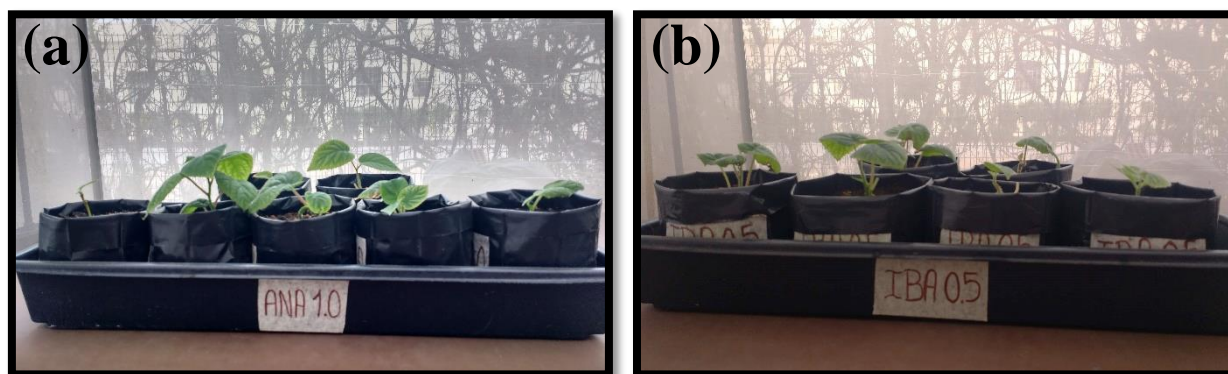


Figura 15: Plantas de kiwi verde aclimatadas al cabo de 30 días. (a) MS/2 + ANA 1.0 ppm.
(b) MS/2 + IBA 0.5 ppm.

FUENTE: Elaboración propia.

El Análisis de varianza y la prueba de Tukey demostraron que los tratamientos ANA 1.0 ppm e IBA 0.5 ppm no presentan diferencias significativas; pero si son significativamente diferentes a los tratamientos control y ANA 0.5 ppm. Por lo que los tratamientos suplementados con ANA 1.0 ppm o IBA 0.5 ppm resultaron mejores para aclimatar en esta investigación (ANEXO 5.5).

De los tratamientos que se utilizaron, las que alcanzaron el mayor porcentaje de supervivencia después de 30 días de aclimatadas, fueron aquellas plantas tratadas con ANA 1.0 ppm e IBA 0.5 ppm (Figura 18). Estos resultados han sido demostrados por Adiyaman et al. (2007) en el caso del tratamiento con ANA y Lozano (2017) en el caso del tratamiento con IBA. ppm, quienes obtuvieron un gran porcentaje de supervivencia entre 80-90 por ciento.

Sin embargo, adicionalmente los trabajos realizados por Lozano (2017) incluyen el uso de IBA 1.0 ppm obteniéndose un porcentaje de supervivencia del 90 por ciento, el cual difiere al resultado obtenido en esta investigación, ya que el porcentaje de sobrevivencia obtenido fue menor (Figura 18). Una de las posibles causas puede deberse al uso de esta concentración de fitohormona para el desarrollo exclusivo de raíces, ya que dicho autor utiliza brotes desarrollados con la finalidad de enraizarlos como se mencionó anteriormente.

Al saber que los tratamientos suplementados con IBA a 1.0 ppm dieron valores mayores en cuanto al peso de las raíces; difiere mucho con los valores encontrados en la etapa de aclimatación. Esto puede deberse que las plantas desarrolladas *in vitro* a dicha

concentración, presentaban un sistema radicular más estresado por la desecación del medio, mostrándose así los pelos radiculares colapsados (ANEXO 6.6). De esta manera, la raíz se cubre de suberina, haciéndola impermeable para evitar la pérdida de agua (Azcon y Talon 1993). Sin embargo, dicha capa dificulta también la absorción de agua en el proceso de aclimatación, siendo esta última indispensable en el proceso. Por ello, la reducción del porcentaje de plantas supervivientes para dicha concentración.

El sustrato comercial que se utilizó (ARANMIX), presentaba en su composición Turba y Perlita a una proporción 6:1 respectivamente. Según autores como Gonzáles et al. (1995), Mohan y Katsuaki (2003) y Lozano (2017), utilizan además de turba o tierra vegetal, arena es una proporción 1:1, debido a que la planta de kiwi tiende a sufrir asfixia radicular (García et al. 2015). Por ello la adición de arena al sustrato, podría aumentar aún más el porcentaje de supervivencia y con ello un mayor desarrollo de la planta.

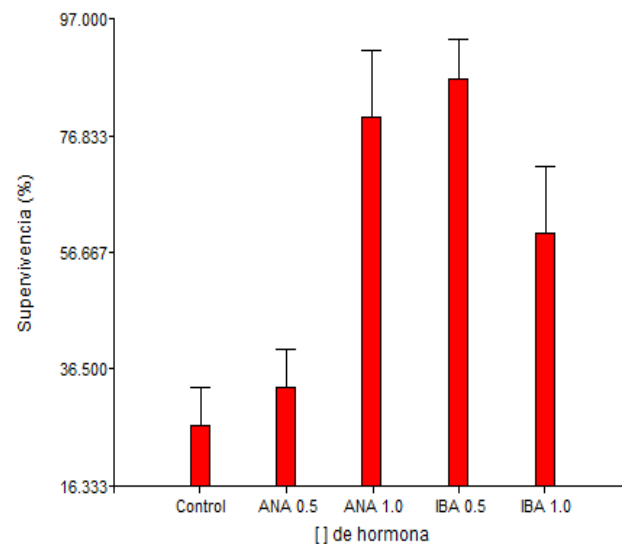


Figura 16: Promedios obtenidos luego de la evaluación a los 30 días de aclimatadas las plántulas.
FUENTE: Elaboración propia.

V. CONCLUSIONES

El uso de Auxinas (ANA e IBA) favorecen la formación de masa radicular en Kiwi verde var. Hayward.

El uso de IBA 1.0 ppm es el tratamiento que mostró mejores resultados en cuanto a la formación de masa radicular *in vitro* para Kiwi variedad Hayward.

El uso de IBA permite la formación de pelos radiculares a temprana edad.

Las plantas desarrolladas en medios suplementados con ANA 1.0 ppm o IBA 0.5 ppm, muestran mejores respuestas en el proceso de aclimatación.

VI. RECOMENDACIONES

Finalizado este experimento, se permite recomendar:

- El uso de fitohormonas ANA a 1.0 ppm o IBA 0.5 ppm para promover una buena formación radicular *in vitro* de kiwi verde var. Hayward y a la vez la aclimatación *ex vitro* de la planta.
- Los brotes que se obtienen del cultivo *in vitro*, forman raíces rápidamente en el proceso de enraizamiento, comparado con la siembra y cultivo de microesquejes.
- La adición de otros sustratos como arena a la turba, podría mejorar la etapa de estrés por aclimatación, por ende, darían una mayor tasa de supervivencia.
- La aplicación comercial del protocolo de micropropagación y aclimatación de plántulas de Kiwi, requiere previamente establecer los protocolos de sexado de plantas, ya que el Kiwi es una planta dioica.

VII. BIBLIOGRAFÍA

1. Abdelnour Esquivel, A. & Vincent Escalant, J. (1994). Conceptos básicos del cultivo de tejidos vegetales. CATIE, Turrialba, Costa Rica; 1 ago.:38. Saad, AI; Elshahed, AM. 2012. Plant tissue culture media. Rijeka, Croatia, InTech. p. 29-40.
2. Adiyaman Akbaş, F.; Işikalan, C. & Namli, S.; Başaran, D. (2007). Micropropagation of Kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). International Journal of Agriculture and Biology 9(3):489-493.
3. Atkinson, R.G. & MacRae, E.A. (2007). Kiwifruit. In Pua, EC; Davey, MR (eds.). Biotechnology in Agriculture and Forestry - Transgenics Crops V. New York, United States. The Horticulture and Food Research. 562 p.
4. Azcon-Bieto, J. & Talon, M. (1993). Fisiología y Bioquímica Vegetal: Pared celular. Estructura y función. 1 ed. Ferrero, M (ed). Madrid, España, McGraw-Hill. 581 p.
5. Bhojwani, S.S. & Dantu, P.K. (2013). Plant Tissue Culture: An Introductory text. Uttar Pradesh, India, Springer. 309 p.
6. Boland, M. (2013). Kiwifruit proteins and enzymes - actinidin and other significant proteins. Advances in Food and Nutrition Research 68:59-80.
7. Brainerd, K. & Fuchigami, L. (1981). Acclimatization of aseptically cultured apple plants to low relative humidity. Journal American Society Horticultural Science 106(4):515-518.
8. Campbell, N.A., Mitchell, L.G. & Reece, J.B. (2001). Biología: Conceptos y Relaciones. 3 ed. México, Pearson. 896 p.
9. Carrión Elguera, A.J. (2017). Producción de microtubérculos “in vitro” de papa (*Solanum tuberosum* L.) en sistema de inmersión temporal y su rendimiento en invernadero. Tesis Bach. Lima, Perú, UNALM. 57 p.

10. CIREN (Centro de Información de Recursos Naturales). (1988). Manual del cultivo del kiwi: Requerimientos del suelo. De la Fuente, J (ed.). Santiago, Chile. 61 p.
11. Citrinotas. (2017). Cierre auspicioso en feria internacional de oferta cítrica. *Procitrus* (61):1-20.
12. Debergh, P.C. & Maene, L.J. (1981). A scheme for the comercial propagation of ornamental plants by tissue culture. *Scientia Horticulturae* 14:335-345.
13. EOL (Encyclopedia of Life). s.f. Kiwifruit, Chinese Gooseberry (en línea). Washington, United States, National Museum of Natural History. Consultado 19 ene. 2019. Disponible en <https://eol.org/pages/5706136>
14. FAO (Food and Ariculture Organization of the United Nations). (2016). Value of Agricultural Production (en línea, sitio web). Consultado 28 dic. 2018. Disponible en <http://www.fao.org/faostat/en/?#data/QV>
15. Ferguson, A.R. (1990). The genus *Actinidia*: Kiwifruit. Warrington, I.J.; Weston, G.C. (eds). AukJand, New Zeland, Science and Management. p. 15-35.
16. Ferguson, A.R. (1999). New Temperate Fruits: *Actinidia chinensis* and *Actinidia deliciosa*. In Janick, J. (ed.). *Perspectives in New crops and New uses*. ASHS Press, Alexandria. p. 342-347.
17. Ferguson, A.R. & Ferguson, L.R. (2003). Are kiwifruit really good for you?. *Acta Hort* 610:131-138.
18. Ferguson, A.R. & MacRae, E.A. (1991). Vitamin C in *Actinidia*. *Acta Hort* 297:481-487
19. Garay, A., De la Paz, M., García, B.; Álvarez, E. & Gutiérrez, C. (2014). La homeostasis de las auxinas y su importancia en el desarrollo de *Arabidopsis thaliana*. *Revista de educación Bioquímica* 33(1):13-22.
20. García Rubio, J.C., García Gonzáles de Lena, G. & Ciordia Ara, M. (2015). El cultivo del kiwi. Asturias, España, SERIDA. 139 p.

21. George, E.F. & De Klerk, G.F. (2008). The Components of Plant Tissue Culture Media I. *In* Plant propagation by tissue culture, (Dordrecht, NL).George, EF; Hall, MA; De Klerk, GJ (eds.). Somerset, United Kingdom, Springer. 500 p.
22. Gómez, Y., Zamilpa, A.; Trejo, G. (2009). (Artículo). Efecto de auxinas en la morfología de raíces *in vitro* de Castilleja tenuiflora. Mexico, Instituto Politécnico Nacional. 1 p.
23. González, M.V., Rey, M. & Rodríguez, R. (1995). Plant Regeneration from Petioles of Kiwifruit Microshoots. *HortScience* 30(6):1302-1303.
24. Huang, H., Gong, J., Wang, S., He, Z., Zhang, Z. & Li, J. (2001).Genetic Diversity in the genus Actinidia. *Chinese Biodiversity* 8:1-12.
25. Huang, H., Zhong, C., Li, X., Li, D; Jiang, Z., Liu, F., Li, Z.,..., Chen, B. (2016a). Kiwifruit, The Genus Actinidia: Natural Distribution of Genus Actinidia. 1ed. Wang, H (ed.). Wuhan, China, China Science Publishing. 334 p.
26. Huang, H., Zhong, C., Li, X., Li, D; Jiang, Z., Liu, F., Li, Z.,..., Chen, B. (2016b). Kiwifruit, The Genus Actinidia: Domestication and Commercialization of Actinidia 1ed. Wang, H (ed.). Wuhan, China, China Science Publishing. 334 p.
27. Huang, H., Zhong, C., Li, X., Li, D; Jiang, Z., Liu, F., Li, Z.,..., Chen, B. (2016c). Kiwifruit, The Genus Actinidia: Biology, Genetic Improvement and Cultivar Development. 1ed. Wang, H (ed.). Wuhan, China, China Science Publishing. 334 p.
28. Hussain, A., Qarshi, I.A., Nazir, H. & Ullah, I. (2012). Plant tissue culture: current status and opportunities. *In* Leva, A; Rinaldi, LM. Recent Advances in Plant in vitro Culture (En línea). Consultado 24 nov. 2018. Disponible en <http://dx.doi.org/10.5772/50568>
29. ITC (International Trade Centre) (2017). Estadísticas del comercio para el desarrollo internacional de las empresas (en línea, sitio web). Consultado 20 jun. 2018. Disponible https://www.trademap.org/Country_SelProductCountry.aspx?nvpm=3|604|||081050||6|1|1|1|1|2|1|
30. Kieran, P., Mac Loughlin, P. & Malone, D. (1997). Plant Cell Suspension Cultures: Some Engineering Considerations. *Journal of Biotechnology* 59:39-52.

31. Kulczewski, M. (2010). Manual de producción de kiwi chileno: Caracterización y requerimientos agroclimáticos. Comité del kiwi, Santiago, Chile; 9 feb.:285.
32. Lemon, C.W. & Considine, J.A. (1992). Anatomy and Histochemistry of the Root System of the Kiwifruit Vine, *Actinidia deliciosa* var. *deliciosa*. *Annals of Botany* 71:117-129.
33. León, J. (2014). Perú debe sembrar nuevos productos como berries o kiwi (en línea). *Agraria.pe*. Lima, Perú; 7 nov. Consultado 15 may. 2018. Disponible en <http://agraria.pe/noticias/peru-debe-sembrar-nuevos-productos-como-berries-o-kiwi-7462>
34. Llorente, B. (2000). Aislamiento, purificación, caracterización y producción in vitro de peptidasas de alcaucil coagulantes de la leche. Tesis Doc. Universidad Nacional de la Plata. 198 p.
35. Lloyd, G. & McCown, B. 1981. Commercially feasible micropropagation of Mountain Laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot tip culture. *Combined Proceedings International Plant Propagator Society* 30:421-427.
36. Lozano, M. (2017). Micropropagación de kiwi (*Actinidia deliciosa*) a escala industrial. Tesis Master. Coruña, España, Universidad de Coruña. 42 p.
37. Machakova, I., Zazimalova, E. & George, E.F. (2008). Plant Growth Regulators I: Introduction, Auxins, their Analogues and Inhibitors. *In* EF George; MA Hall y GJ De Klerk (eds.) *Plant propagation by tissue culture*. 3 ed. s.l., Springer. v. 1, C5.
38. Maddumage, R., Nieuwenhuizen, N., Bulley, S., Cooney, J., Green, S. & Atkinson, R. (2013). Diversity and relative levels of actinidin, kiwellin, and thaumatin-like allergens in 15 varieties of kiwifruit (*Actinidia*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61:728-739.
39. Maldonado, C., Beltrán, E., Lopez, J. & Macías, L. (2015). Regulación genética y fisiológica del desarrollo de los pelos radiculares. Michoacán, México, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. 66:62-83.

40. Manero, A. (2015). ¿Viene el kiwi? (en línea). Agraria.pe. Lima, Perú; 13 mar. Consultado 20 may. 2018. Disponible en <http://agraria.pe/columna.php?url=viene-el-kiwi>
41. Marana, J.P., Miglioranza, E. & De Faria, RT. (2009). In vitro establishment of *Jacaratia spinosa* (Aubl.) ADC. *Semina-Ciencia Agrarias* 30(2): 271-274.
42. McGaw, B.A. (1995). Cytokinin biosynthesis and metabolism. *Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*. s.l., Kluwer. p. 98-117.
43. McPherson, H.G., Snelgar, W.P., Manson, P.J. & Snowball, AM. (1997). Bud Respiration and Dormancy of Kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). *Annals of botany* 80:411-418.
44. MINAGRI (Ministerio de Agricultura y Riego). (2015). Clasificación de tipos de climas en el Perú (en línea, sitio web). Consultado 20 may. 2018. Disponible en <http://www.minagri.gob.pe/portal/53-sector-agrario/el-clima/367-clasificacion-de-climas>
45. Mohan, S. & Katsuaki, I. (2003). Micropropagation of woody trees and fruits: *Actinidia*. Nva. ed. s.l., Springer. p. 467-471.
46. Morales Rubio, M.E., Espinosa Leal, C. & Garza Padrón, R.A. (2016). Cultivo de tejidos vegetales y su aplicación en productos naturales. *In* Rivas Morales, C; Oranday Cardenas, MA; Verde Star, MJ. (Eds.). *Investigación en plantas de importancia médica*. Barcelona, España, OmniaScience. p. 351-410.
47. Motohashi, N. (2002). Cancer prevention and therapy with kiwifruit in chinese folklore medicine - A study of kiwifruit extracts. *Journal Ethnopharmacol* 81(3):357-364.
48. Mroginski, L., Sansberro, P. & Flaschland, E. (2010). Establecimiento de cultivos Vegetales. *Biotecnología y Mejoramiento Vegetal II*. Buenos Aires, Argentina, ArgenBio. p. 70-84.
49. Murashige, T. & Skoog, F. (1962). A revised médium for rapid growth and bio assays with Tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15(1):173-197.
50. Nishiyama, I. (2007). Fruits of the *Actinidia* genus. *Advances in Food and Nutrition Research* 52:293-324.

51. Noroña González, A.M. (2010). Determinación de un método de desinfección y un medio de cultivo para la multiplicación *in vitro* de camu-camu (*Myrciaria dubia* H.B.K. Mc Vaugh). Cutuglagua, Pichincha. Tesis Bach. Quito, Ecuador, Universidad Central del Ecuador. 106 p.
52. Olmos, S.; Luciani, G.; Galdeano, E. (2002). Métodos de propagación y conservación de germoplasma. Levitus, G; Echenique, V; Rubinstein, C; Hopp, E; Mroginski, L (eds.). Biotecnología y mejoramiento vegetal. Buenos Aires, Argentina, ArgenBio INTA.161 p.
53. Ortíz Rojas, L.Y., Suárez Botello, J.C. & Chaves Bedoya, G. (2017). Respuesta en el desarrollo radicular de *Arabidopsis thaliana* al extracto foliar de *Moringa oleifera*. Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas 11(1):193-199.
54. Oviedo López, R.G. (2015). Efecto de diferentes sustratos en la etapa de aclimatación *ex vitro* de piña (*Ananas comosus* L merr) var. Md2. Tesis Bach. El Oro, Ecuador, Universidad Técnica de Machala. 32 p.
55. Pedroso, M.C., Oliveira, M.M. & Pais, MS. (1992). Micropropagation and Simultaneous Rooting of *Actinidia deliciosa* var. *deliciosa* 'Hayward'. HortScience 27(5):443-445.
56. Peret, B., De Rybel, B., Casimiro, I., Benkova, E., Swarup, R., Laplaze, L., Beeckman, T. & Bennett, M.J. (2009). *Arabidopsis* lateral root development: an emerging story. Trends Plant Sci. 14:399-408.
57. Peticila, A., Stanica, F., Madjar, R. & Venat-Dumitriu, O. (2012). Micropropagation of baby kiwi (*Actinidia arguta*) using mature stem segments. Scientific Papers (Serie B, Horticulture) 56:139-142.
58. Pierik, R. (1990). *In vitro*. Culture of higher plants. Holland, Kluwer Academic Publisher. 350 p.
59. Pineda, A., Vargas, T., Escala, M. & De García, E. (2012). Organogénesis *in vitro* en piña "Española Roja" Y morfoanatomía foliar de las plantas obtenidas en el proceso. Bioagro 24(3):175-86.

60. Radice, S., Caso, O.H. (1991). Micropropagación de *Actinidia chinensis* Planch. (Kiwi). Optimización del medio de cultivo para la propagación clonal en gran escala. *Agriscientia* 8:55-60.
61. Redacción E.C. (Redacción El Comercio). (2017). Frutas exóticas, potencial de comercio para la selva peruana (en línea). *El Comercio*, Lima, Perú; 28 mar. Consultado 16 jul. 2018. Disponible en <https://elcomercio.pe/economia/frutas-exoticas-potencial-comercio-selva-peruana-422526>
62. Roca, W.M. & Mroginski, L.A. (1991). Cultivo de Tejidos en la Agricultura: Fundamentos y Aplicaciones. Cali, Colombia, CIAT. 969 p.
63. Salinero, M.C. & Martino, J. (1998). Producción de kiwi en la Península Ibérica. *Revista Vida Rural*, Leñosas 76(1):48-52.
64. Saliyan, T., Shakheel, M., Satish, S. & Hedge, K. (2017). A Review of *Actinidia deliciosa*. *International Journal of Pharma And Chemical Research* 3(1):103-108.
65. Scalize, F.B., Môro, F.V. & Damião, C.F. (2001). Micropropagação do kiwi cv. Hayward. *Rev. Bras. Frutic.* 23(3):656-661.
66. Segretín, M.E. (2006). Los cultivos celulares y sus aplicaciones II: Cultivo de células vegetales. Buenos Aires, Argentina, ArgenBio. 6 p.
67. Segura, A. (2015). Control de la maduración del kiwi (*Actinidia deliciosa*). Tesis Lic. Ing. Agr. Valencia, España. Universidad Politécnica de Valencia. 20 p.
68. Shastri, K.V., Bhatia, V., Parikh, P.R. & Chaphekar, V.N. (2012). *Actinidia deliciosa* - A review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 3(10):3543-3549.
69. Strik, B. & Cahn, H. (2000). Kiwifruit Cultivars. *In Growing Kiwifruit*. Oregón, United States, PNW 507. p. 1-5
70. Suárez, F. (2011). Micropropagación in vitro de piña (*Ananas comosus* L. Merrill) Híbrido MD-2, a partir de cortes de yemas laterales y apicales. Tesis Lic. Sangolquí, Ecuador, Escuela Politécnica del Ejército. 61 p.

71. Taiz, L. & Zeiger, E. (2006). Fisiología vegetal: Auxina, la hormona del crecimiento. 2 ed. España, Sinauer Associates. v. 3, 1338 p.
72. Tanaka, H., Shoyama, Y., Sasaki, Y. & Sashida, Y. (1997). Micropropagation of *Actinidia polygama* from fruit galls. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 48:135-137.
73. Testolin, R., Cipriani, G. & Costa, G. (1994). Genetic solutions to kiwifruit culture in Italy. *In* R. Monet (ed.). *Production du Kiwi (Actinidia deliciosa) en Europe. Redements, Qualité et Aspects Economiques*. Brussels, Belgium, Commission Européenne. p.85-96.
74. Thomas, P. (1998). Humid incubation period and plantlet age influence acclimatization and establishment of micropropagated grapes. *Vitr cell* 34:52-6.
75. Thorpe, T.A. (2007). History of plant tissue culture. *Molecular Biotechnology* 37(2):169-180.

VIII. ANEXOS

Anexo 1: Composición del medio de cultivo MS/2 (CIRGEBB).

Macronutrientes	
(NH ₄)NO ₃ (mg/L)	825
MgSO ₄ .7H ₂ O (mg/L)	185
KNO ₃ (mg/L)	950
KH ₂ PO ₄ (mg/L)	85
CaCl ₂ .2H ₂ O (mg/L)	220
Micronutrientes	
FeSO ₄ .7H ₂ O (mg/L)	13.9
Na ₂ EDTA (mg/L)	18.65
H ₃ BO ₃ (mg/L)	3.1
MnSO ₄ .4H ₂ O (mg/L)	11.15
ZnSO ₄ .7H ₂ O (mg/L)	4.3
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O (mg/L)	0.125
CuSO ₄ .5H ₂ O (mg/L)	0.0125
CoCl ₂ .6H ₂ O (mg/L)	0.0125
KI (mg/L)	0.415
Constituyentes Orgánicos	
Myo- Inositol (mg/L)	50
Tiamina HCl (mg/L)	0.05
Ácido nicotínico (mg/L)	0.25
Glicina (mg/L)	1
Piridoxina HCl (mg/L)	0.25
Fuente de carbono y soporte	
Sacarosa (g/L)	30
Agar (g/L)	7.5
pH	5.6

FUENTE: CIRGEBB

Anexo 2: Forma disponible y función de los constituyentes de un medio de cultivo para plantas *in vitro*.

Constituent	Form of availability	Role
Potassium	K ⁺	Necessary for normal cell division, and synthesis of proteins and chlorophyll
Magnesium	Mg ²⁺	Component of chlorophyll molecule
Calcium	Ca ²⁺	Constituent of cell wall; involved in the regulation of hormone responses and could have a pre-emptive role in morphogenesis; deficiency may cause shoot tip necrosis
Nitrogen	NO ₃ ⁻ NH ₄ ⁺ Organic Nitrogen (vitamins/ amino acids)	Important constituent of amino acids, vitamins, nucleic acids and proteins; indirectly affects growth by its influence on pH of the medium; NH ₄ ⁺ is necessary for somatic embryogenesis in cell and callus cultures
Phosphorus	PO ₄ ³⁻	Vital for cell division; storage and transfer of energy (part of AMP, ADP and ATP)
Sulphur	SO ₄ ²⁻	Present in some amino acids (cysteine, cystine and methionine) and proteins
Iron	Fe ²⁺	Part of certain enzymes; functions as respiratory electron carrier through such compounds as cytochrome and oxidative enzymes, peroxidases and catalase
Copper	Cu ²⁺	Part of certain oxidative enzymes such as cytochrome oxidases, tyrosinase and ascorbic oxidase which serve to oxidize phenolic substances
Zinc	Zn ²⁺	Component of the enzyme concerned with the synthesis of the IAA precursor tryptophan; deficiency of zinc may cause rosetting/leaf chlorosis
Molybdenum	MoO ₄ ⁻	Component of some plant enzymes, such as nitrate reductase, and therefore, essential for nitrogen metabolism
Boron	BO ₃ ²⁻	Exact role not known but implicated in enhancing the rate of sugar movement in plants
Thiamine	Vitamin B ₁	Involved in biosynthesis of certain amino acids; an essential cofactor in carbohydrate metabolism could have synergistic interaction with cytokinins.
Ascorbic acid	Vitamin C	An antioxidant, prevents blackening during explant isolation
<i>Myo</i> -inositol		Phosphatidyl-inositol is important in signal transduction; inositol phosphate may be acting as a second messenger to the primary action of auxins; probable role as a carrier and in storage of IAA as IAA- <i>myo</i> -inositol ester; a crucial precursor in the formation of pectin and hemicelluloses required for cell wall; may have role in the uptake and utilization of ions
Sucrose		Serves as carbon and energy as well as osmotic agent

FUENTE: Tomado de Bhojwani y Dantu 2013:30.

Anexo 3: Preparación y aplicación de Cercobin.

El Cercobin es un fungicida agrícola en forma de polvo; y su aplicación es sobre el follaje o sobre el sustrato. En el tratamiento del sustrato ARANMIX, se utilizó Cercobin al 0.5 % diluido en agua.

Cercobin 0.5 % ----- 0.5 g -----100 mL
5 g ----- 1 L

Se prepara 5 g de Cercobin en un volumen de 1 L.

- Se aplicó un litro de Cercobin 0.5 % por un volumen de 20 Litros de sustrato.
- Luego de aplicar el fungicida, se colocó dentro de bolsas y se dejó reposar por 7 días.
- El sustrato fue colocado en bolsas de almácigo, listos para usar.

Anexo 4: Reporte de resultados totales obtenidos.

4.1 Reporte de resultados totales obtenidos de cada unidad experimental para las variables peso fresco y peso seco radicular, a los 30 y 60 días respectivamente; de cultivados los explantes de kiwi verde var. Hayward.

		CONTROL	ANA 0.5	ANA 1.0	IBA 0.5	IBA 1.0
30 DIAS	PESO FRESCO	0.0971	0.224	0.213	0.2107	0.2346
		0.1536	0.2008	0.1672	0.2344	0.2548
		0.1607	0.1401	0.1866	0.1912	0.1977
		0.1238	0.1869	0.2085	0.197	0.2384
		0.157	0.1934	0.1837	0.2276	0.2063
	PESO SECO	0.0072	0.0179	0.0193	0.0248	0.0259
		0.0128	0.0162	0.0122	0.0239	0.036
		0.0131	0.0102	0.0195	0.0176	0.0349
		0.0085	0.0187	0.0247	0.0283	0.0263
		0.0116	0.0203	0.0199	0.0277	0.0275
60 DIAS	PESO FRESCO	0.2224	0.5717	0.4043	0.604	0.5246
		0.2043	0.563	0.5277	0.5416	0.5269
		0.2309	0.1635	0.545	0.6728	0.6509
		0.2118	0.3382	0.4736	0.5392	0.6485
		0.1922	0.4852	0.5641	0.5442	0.5727
	PESO SECO	0.0178	0.0441	0.0413	0.0605	0.0809
		0.0119	0.0125	0.0324	0.0579	0.0769
		0.0188	0.0087	0.0508	0.0564	0.0696
		0.0137	0.0315	0.0471	0.0482	0.0673
		0.0128	0.024	0.0496	0.0516	0.0611

4.2 Reporte de resultados totales obtenidos para la variable porcentaje de supervivencia a los 30 días de aclimatadas las plántulas de kiwi verde var. Hayward.

	Porcentaje de supervivencia (%)			
	R1	R2	R3	\bar{x}
Control	40.00	20.00	20.00	26.67
ANA 0.5	40.00	40.00	20.00	33.33
ANA 1.0	60.00	100.00	80.00	80.00
IBA 0.5	80.00	100.00	80.00	86.67
IBA 1.0	60.00	80.00	40.00	60.00

Anexo 5: Análisis De La Varianza (ANOVA)

5.1 Análisis de la varianza (ANOVA) y resultados del test de Tukey para la variable peso fresco a los 30 de cultivados los explantes de kiwi verde var. Hayward.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
peso	25	0.65326	0.58391	12.70570

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0.02232	4	0.00558	9.41988	0.0002
hormona	0.02232	4	0.00558	9.41988	0.0002
Error	0.01185	20	0.00059		
Total	0.03417	24			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.04606

Error: 0.0006 gl: 20

hormona	Medias	n	E.E.	
Control	0.13844	5	0.01088	A
ANA 0.5	0.18904	5	0.01088	B
ANA 1.0	0.19180	5	0.01088	B
IBA 0.5	0.21218	5	0.01088	B
IBA 1.0	0.22636	5	0.01088	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

5.2 Análisis de la varianza (ANOVA) y resultados del test de Tukey para la variable peso seco a los 30 de cultivados los explantes de kiwi verde var. Hayward.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
peso	25	0.77	0.72	20.36

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1.1E-03	4	2.8E-04	16.39	<0.0001
hormona	1.1E-03	4	2.8E-04	16.39	<0.0001
Error	3.4E-04	20	1.7E-05		
Total	1.4E-03	24			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.00778

Error: 0.0000 gl: 20

hormona	Medias	n	E.E.	
Control	0.01	5	1.8E-03	A
ANA 0.5	0.02	5	1.8E-03	A B
ANA 1.0	0.02	5	1.8E-03	B C
IBA 0.5	0.02	5	1.8E-03	C D
IBA 1.0	0.03	5	1.8E-03	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

5.3 Análisis de la varianza (ANOVA) y resultados del test de Tukey para la variable peso fresco a los 60 de cultivados los explantes de kiwi verde var. Hayward.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
peso	25	0.81	0.77	17.16

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0.51	4	0.13	21.47	<0.0001
hormona	0.51	4	0.13	21.47	<0.0001
Error	0.12	20	0.01		
Total	0.63	24			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.14576

Error: 0.0059 gl: 20

hormona	Medias	n	E.E.	
Control	0.21	5	0.03	A
ANA 0.5	0.38	5	0.03	B
ANA 1.0	0.46	5	0.03	B C
IBA 0.5	0.58	5	0.03	C
IBA 1.0	0.60	5	0.03	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

5.4 Análisis de la varianza (ANOVA) y resultados del test de Tukey para la variable peso seco a los 60 de cultivados los explantes de kiwi verde var. Hayward.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
peso	25	0.88	0.85	20.24

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0.01	4	2.6E-03	35.97	<0.0001
hormona	0.01	4	2.6E-03	35.97	<0.0001
Error	1.4E-03	20	7.2E-05		
Total	0.01	24			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.01605

Error: 0.0001 gl: 20

hormona	Medias	n	E.E.	
Control	0.02	5	3.8E-03	A
ANA 0.5	0.02	5	3.8E-03	A
ANA 1.0	0.04	5	3.8E-03	B
IBA 0.5	0.05	5	3.8E-03	B
IBA 1.0	0.07	5	3.8E-03	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

5.5 Análisis de la varianza (ANOVA) y resultados del test de Tukey para la variable porcentaje de supervivencia después de 30 días de aclimatadas las plántulas.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Supervivencia (%)	15	0.78	0.70	27.02

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	8693.33	4	2173.33	9.06	0.0023
[] de hormona	8693.33	4	2173.33	9.06	0.0023
Error	2400.00	10	240.00		
Total	11093.33	14			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=41.62926

Error: 240.0000 gl: 10

[] de hormona	Medias	n	E.E.
Control	26.67	3	8.94 A
ANA 0.5	33.33	3	8.94 A
IBA 1.0	60.00	3	8.94 A B
ANA 1.0	80.00	3	8.94 B
IBA 0.5	86.67	3	8.94 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Anexo 6: Registro Fotográfico.

6.1 Instalación del experimento en el cuarto de crecimiento.



FUENTE: Elaboración propia.

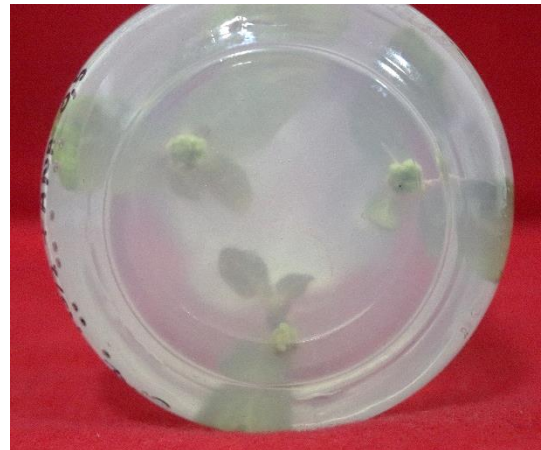
6.2 Explantes cultivados sobre los tratamientos.



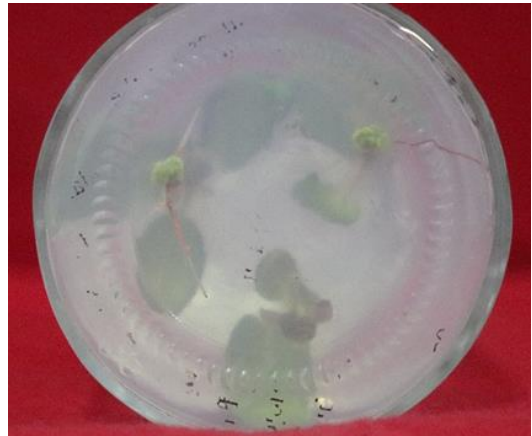
FUENTE: Elaboración propia.

6.3 Enraizamiento in vitro a los 30 días.

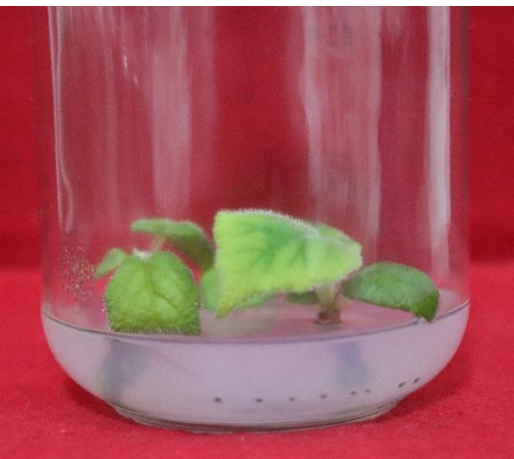
MS/2 (Control)



MS/2 + ANA 0.5 ppm

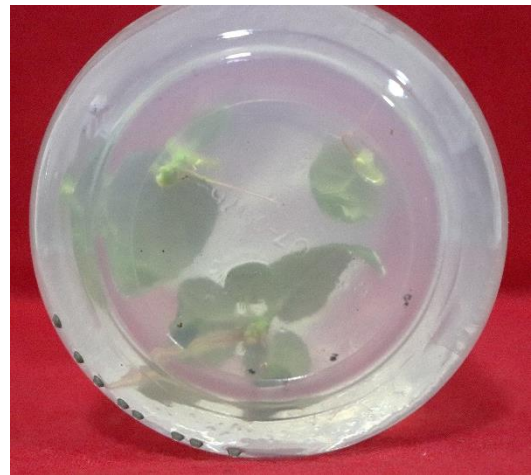


MS/2 + ANA 1.0 ppm



Continuación...

MS/2 + IBA 0.5 ppm



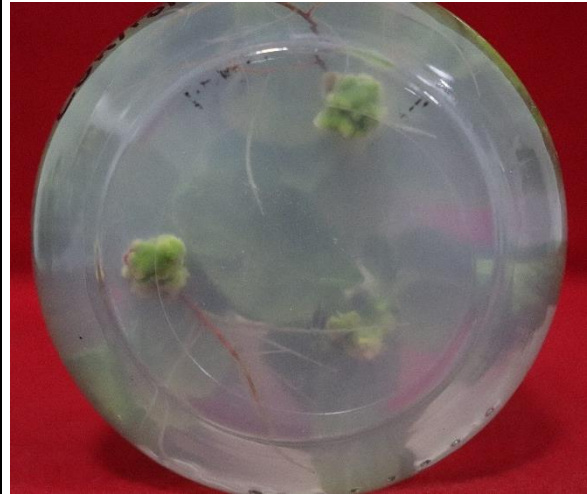
MS/2 + IBA 1.0 ppm



FUENTE: Elaboración propia.

6.4 Enraizamiento in vitro a los 60 días.

MS/2 (Control)

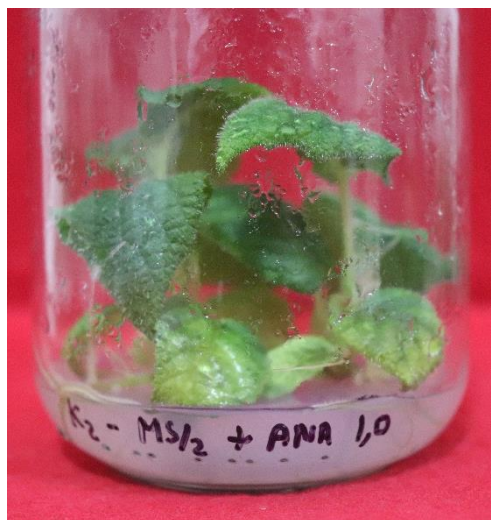


MS/2 + ANA 0.5 ppm

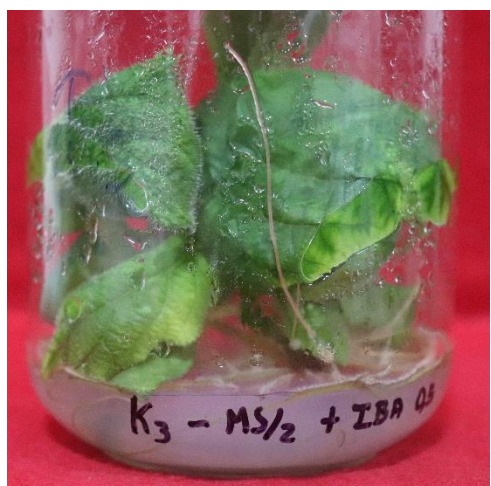


MS/2 + ANA 1.0 ppm

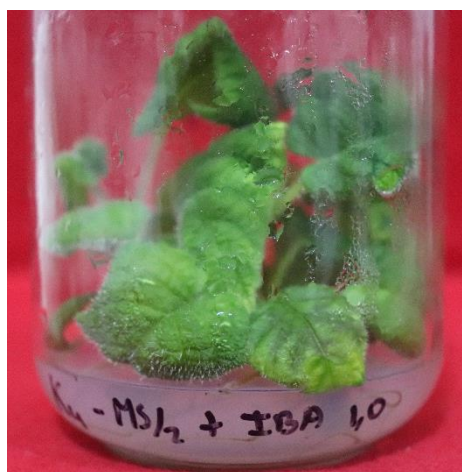
Continuación...



MS/2 + IBA 0.5 ppm



MS/2 + IBA 1.0 ppm



FUENTE: Elaboración propia.

6.5 Visualización de pelos radiculares a través de una lupa.



FUENTE: Elaboración propia.

6.6 Visualización de los pelos radicales a través de un microscopio con un aumento 10X.

MS/2 (Control)



MS/2 + ANA 0.5 ppm

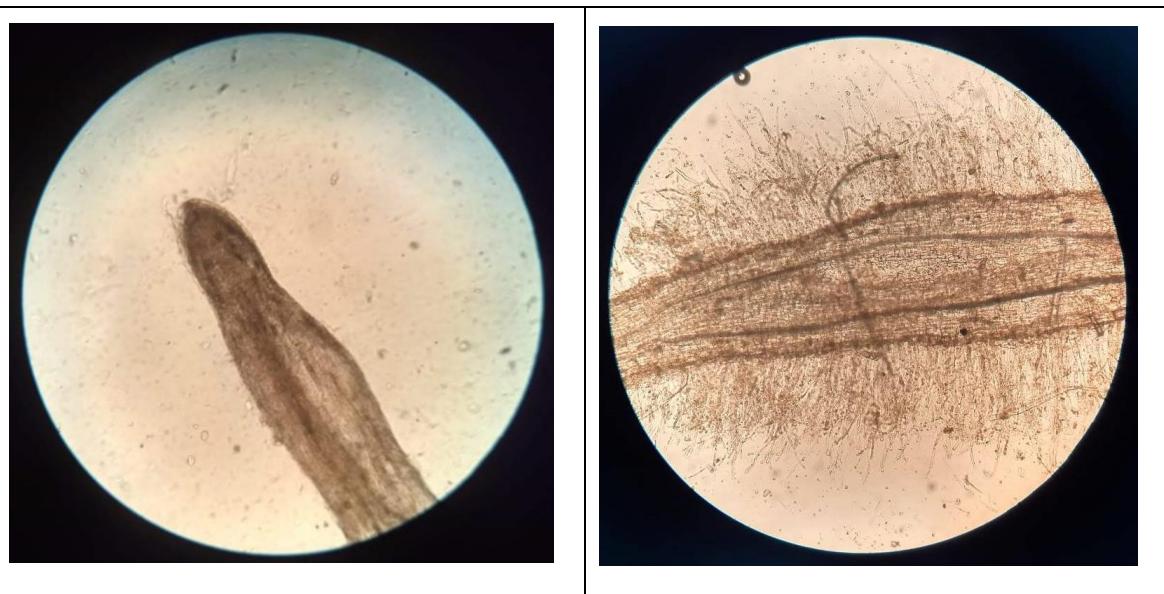


MS/2 + ANA 1.0 ppm

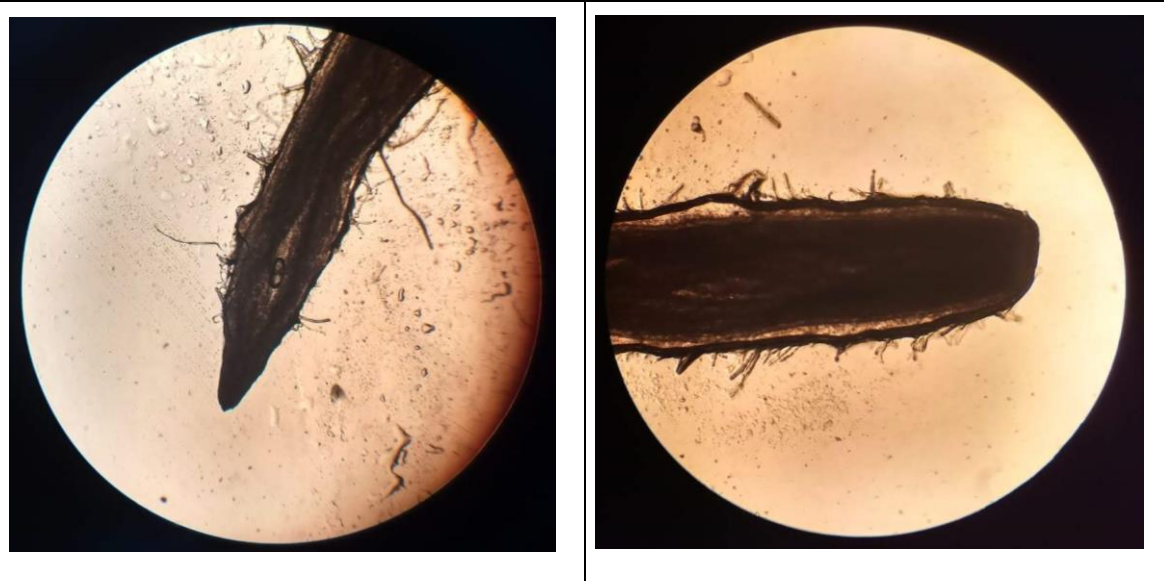


MS/2 + IBA 0.5 ppm

Continuación...



MS/2 + IBA 1.0 ppm



FUENTE: Elaboración propia.

6.7 Aclimatación de las plántulas de kiwi verde var. Hayward después de 30 días.

MS/2 (Control)



MS/2 + ANA 0.5 ppm



MS/2 + ANA 1.0 ppm

Continuación...



MS/2 + IBA 0.5 ppm



MS/2 + IBA 1.0 ppm

Continuación...



FUENTE: Elaboración propia.