



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

Facultad de

Ciencias e Ingeniería

Evaluación comparativa de 4 bioestimulantes comerciales a base de extractos de
algas marinas en el proceso de aclimatación ex vitro de plántulas de arándano
variedad Emerald

TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN
BIOLOGÍA

AUTORA

SARA MARCELA JIMENEZ CASALLO

ASESOR

LUIS ALBERTO ROSSI MAYO

LIMA – PERÚ
2026

JURADO CALIFICADOR:

Presidente: Mg. Luis Ramón Huaman Mesía

Vocal: Dr. Federico Luis Sebastián Rizo-Patrón Viale

Secretario: Mg. Hugo Antonio Flores Liñan

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

Los egresados:

N°	APELLIDOS Y NOMBRES
1.	JIMENEZ CASALLO SARA MARCELA

(Agregar filas adicionales si hay más autores)

Pertenecientes al programa de la **CARRERA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA**, autores del trabajo titulado: **Evaluación comparativa de 4 bioestimulantes comerciales a base de extractos de algas marinas en el proceso de aclimatación ex vitro de plántulas de arándano variedad Emerald**, el cual ha sido elaborado, sustentado y aprobado, según corresponda, para optar por el **TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN BIOLOGÍA** bajo la modalidad de **TESIS**.

En calidad de docentes asesores de la Universidad Peruana Cayetano Heredia:

N°	APELLIDOS Y NOMBRES DEL DOCENTE	FACULTAD	NIVEL DE ASESORÍA
1.	ROSSI MAYO LUIS ALBERTO	FACI	ASESOR
2.			

Declaramos que el contenido del presente documento es original y que las citas y referencias a otros autores cumplen con las normas académicas establecidas. En ese sentido, hacemos constar que:

- El documento presenta un porcentaje de similitud de **13%**, según el reporte emitido por el software **Turnitin®** (identificador de entrega: **3633278187**; fecha de entrega: **25/08/2026**).
- Tras una revisión detallada del reporte y del contenido del trabajo en cuestión, no se han identificado indicios de plagio.
- Se certifica que el documento respeta los principios de integridad académica y cumple con los requisitos institucionales de originalidad.

Lugar y fecha: **Lima, 25 de agosto de 2026.**



Firma del asesor
N° DNI: 25658143
ORCID: 0009-0009-1540-5741

DEDICATORIA

*A mi mamá, por su apoyo incondicional, por creer que sí podía
y por ayudarme a comprender el trabajo en campo.*

*A Belén, por darme la oportunidad de desarrollarme
en lo que amo y dar origen al proyecto.*

Este trabajo no existiría sin ustedes.

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT.....	2
I. INTRODUCCIÓN.....	3
1.1. Importancia del cultivo de arándano a nivel mundial.....	3
1.2. El arándano en el Perú y características de la variedad ‘Emerald’	3
1.3. Micropropagación <i>in vitro</i> y etapa de aclimatación <i>ex vitro</i>	4
1.4. Estrés abiótico y mecanismos de defensa en plantas.....	6
1.5. Bioestimulantes agrícolas como herramienta para mitigar el estrés.....	7
1.6. Extractos de algas marinas: composición y efectos en cultivos	7
1.7. Brecha de conocimiento en la aclimatación <i>ex vitro</i> de ‘Emerald’	9
1.8. Justificación y relevancia del estudio	9
II. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	11
III. HIPÓTESIS.....	11
IV. OBJETIVOS	11
4.1. Objetivo general.....	11
4.2. Objetivos específicos	11
V. MATERIALES Y MÉTODOS.....	12
5.1. Material vegetal, endurecimiento y condiciones de aclimatación <i>ex vitro</i>	12
5.2. Bioestimulantes comerciales y tratamientos.....	13
5.3. Diseño experimental	14
5.4. Tasa de supervivencia	14
5.5. Variables morfológicas	14
5.6. Variables fisiológicas.....	15
5.7. Variables bioquímicas.....	17
5.8. Análisis estadístico	19
VI. RESULTADOS.....	21

6.1.	Condiciones ambientales	21
6.2.	Tasa de supervivencia	23
6.3.	Variables morfológicas	24
6.4.	Variables fisiológicas.....	26
6.5.	Variables bioquímicas.....	27
VII.DISCUSIÓN.....		31
VIII.CONCLUSIONES.....		34
IX. LIMITACIONES.....		35
X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS		36
ANEXOS.....		43

RESUMEN

La aclimatación *ex vitro* de plántulas micropropagadas de arándano constituye una etapa crítica, ya que el material vegetal debe ajustarse progresivamente a condiciones ambientales menos controladas. En este contexto, el presente estudio evaluó el efecto de bioestimulantes comerciales a base de extractos de algas marinas sobre plántulas de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) variedad ‘Emerald’ durante una fase avanzada de la aclimatación *ex vitro* en vivero. Se aplicaron cinco tratamientos: T0 (control), T1 (GROW MORE Seaweed Extract, extracto de *Ascophyllum nodosum*), T2 (ALGAX, Comercial Andina Industrial S.A.C, extracto de *Ascophyllum nodosum*), T3 (BÄRIG Red, extracto de *Kappaphycus alvarezii*) y T4 (Basfoliar Algae, extracto de *Durvillaea antarctica*). Se evaluaron variables de supervivencia, morfología, fisiología y bioquímica. Los datos se analizaron mediante ANOVA de una vía y, en el caso del crecimiento en altura, mediante ANOVA de medidas repetidas.

Los resultados mostraron que la supervivencia fue alta en todos los tratamientos, con valores entre 86% y 100%, destacando T1 y T4. En morfología, no se observaron diferencias significativas en altura final, pero sí en área foliar y biomasa seca total, con mayores valores en T4 y en T3-T4, respectivamente. En fisiología, el contenido relativo de agua no presentó diferencias significativas, mientras que la eficiencia fotoquímica máxima del fotosistema II mostró un efecto global del tratamiento sin separación entre medias en Tukey. En bioquímica, los pigmentos fotosintéticos y la actividad de catalasa respondieron significativamente a los tratamientos, mientras que la superóxido dismutasa no presentó diferencias estadísticas. En conjunto, T4 mostró el comportamiento más consistente, evidenciando el potencial de ciertos bioestimulantes algales para mejorar el desempeño de plántulas de arándano ‘Emerald’ durante la aclimatación *ex vitro*.

Palabras clave: Arándano, extractos de algas, bioestimulantes, aclimatación

ABSTRACT

Ex vitro acclimatization of micropropagated blueberry plantlets is a critical stage, since the plant material must progressively adjust to less controlled environmental conditions. In this context, the present study evaluated the effect of commercial biostimulants based on seaweed extracts on blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) cv. ‘Emerald’ plantlets during an advanced phase of *ex vitro* acclimatization under nursery conditions. Five treatments were applied: T0 (control), T1 (GROW MORE Seaweed Extract, *Ascophyllum nodosum* extract), T2 (ALGAX, Comercial Andina Industrial S.A.C., *Ascophyllum nodosum* extract), T3 (BÄRIG Red, *Kappaphycus alvarezii* extract), and T4 (Basfoliar Algae, *Durvillaea antarctica* extract). Survival, morphological, physiological and biochemical variables were assessed. Data were analyzed using one-way ANOVA and, in the case of height growth, repeated measures ANOVA.

The results showed that survival was high in all treatments, ranging from 86% to 100%, with T1 and T4 standing out. In terms of morphology, no significant differences were observed in final height, but significant differences were found in leaf area and total dry biomass, with the highest values in T4 and in T3-T4, respectively. Regarding physiology, relative water content did not show significant differences, whereas the maximum photochemical efficiency of photosystem II showed an overall treatment effect without separation of means in Tukey’s test. In biochemical terms, photosynthetic pigments and catalase activity responded significantly to the treatments, while superoxide dismutase did not show statistical differences. Overall, T4 exhibited the most consistent performance, highlighting the potential of certain seaweed-based biostimulants to improve the performance of blueberry plantlets during *ex vitro* acclimatization.

Keywords: Blueberry, seaweed extracts, biostimulants, acclimatization.

I. INTRODUCCIÓN

1.1.Importancia del cultivo de arándano a nivel mundial

El arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) se ha consolidado como una de las frutas de mayor interés comercial a nivel internacional debido a su elevado contenido de compuestos bioactivos, especialmente antocianinas, vitamina C y otros compuestos fenólicos, que le confieren propiedades antioxidantes y beneficiosas para la salud humana [1-3]. Su creciente demanda ha impulsado la expansión y tecnificación de los sistemas de producción en diversos países, incluyendo Estados Unidos, Canadá, Chile, México, España y Perú [1, 4].

Este crecimiento responde tanto al aumento del consumo interno como a la expansión del comercio internacional de fruta fresca y procesada, apoyado en cadenas de frío y logística especializada. La consolidación del arándano como cultivo de alto valor ha motivado la introducción de nuevas variedades, el desarrollo de paquetes tecnológicos intensivos y la búsqueda de estrategias que permitan garantizar la calidad del fruto y la sostenibilidad de los sistemas de producción [5, 6].

1.2.El arándano en el Perú y características de la variedad ‘Emerald’

Existen tres grandes tipos comerciales de arándano (Lowbush, Highbush y Rabbiteye), que difieren en porte, requerimientos de frío y adaptación a distintos ambientes [7]. A partir de los Highbush se han desarrollado los híbridos Southern Highbush, caracterizados por un menor requerimiento de horas frío y una mejor adaptación a climas templados/cálidos, lo que ha permitido entender el cultivo hacia regiones no tradicionales [8]. En el Perú, variedades como ‘Biloxi’, ‘Legacy’, ‘Misty’, ‘Bluecrop’ y ‘Emerald’ se han posicionado en los últimos años, siendo estas dos últimas introducciones relativamente recientes [1, 9].

Dentro de este grupo, la variedad ‘Emerald’, creada a partir del cruce entre los híbridos FL91-69 y NC1528 (Anexo 1), fue patentada como USPP 12165 y se ha convertido en una de las variedades más cultivadas en el país [10]. ‘Emerald’, es un híbrido tetraploide de bajo requerimiento de frío, caracterizado por su vigor, arquitectura semierecta, buena supervivencia en campo y frutos de calibre medio a grande, con rendimientos elevados en Florida y otras regiones de clima similar [11, 12]. Estas características han motivado

su adopción en distintos países que buscan combinar precocidad, calidad de fruto y adaptación a inviernos suaves.

En este contexto, el Perú ha pasado de ser un productor marginal a posicionarse como el principal productor y exportador mundial de arándanos desde el 2021, con tasas de crecimiento anual de exportaciones superiores al 100% hacia mercados como Estados Unidos y una rápida expansión hacia Europa y Asia [13]. Este proceso de expansión generalmente se aprecia en los valles costeros por las condiciones edafoclimáticas. En condiciones de ‘no-chill’ o enfriamiento mínimo, estudios comparativos han mostrado un buen desempeño de ‘Emerald’ en términos de producción y calidad de fruto, aunque también evidencian que la expresión de su potencial productivo depende fuertemente de un manejo cuidadoso del riego, la nutrición y la sanidad del cultivo [14].

En perspectiva, el cultivo de arándano en el Perú continuará teniendo una importancia estratégica en los próximos años, no solo por el dinamismo de las exportaciones, sino también por la necesidad de mantener su competitividad frente a mayores exigencias de calidad, eficiencia productiva y sostenibilidad. En este escenario, la consolidación del sector dependerá cada vez más de la optimización de los sistemas de producción y del manejo agronómico en las diferentes zonas de cultivo [13, 15, 16].

En el contexto peruano, donde la demanda de plantones certificados es alta y el establecimiento de nuevas áreas de cultivo continúa en expansión, resulta crítico asegurar la producción de plántulas homogéneas, sanas y de buena calidad fisiológica, especialmente cuando se recurre a la micropropagación como herramienta de multiplicación [13, 17].

1.3. Micropropagación *in vitro* y etapa de aclimatación *ex vitro*

La micropropagación *in vitro* se ha consolidado como una técnica fundamental para la producción masiva de material vegetal de arándano, ya que permite obtener plántulas genéticamente uniformes, con alta sanidad y aptas para programas de fruticultura intensiva [18, 19]. En comparación con la propagación convencional por estacas, que suele presentar bajas tasas de enraizamiento y un ritmo de multiplicación limitado, la

micropropagación ofrece mayores coeficientes de multiplicación y la posibilidad de mantener bancos de germoplasma en condiciones controladas [20, 21].

Los protocolos de micropropagación de arándano se estructuran, de manera general, en cuatro fases: establecimiento del explante, multiplicación de brotes, enraizamiento y aclimatación *ex vitro*. No obstante, estas etapas no siempre se comportan de manera uniforme entre cultivares, ya que la respuesta del material vegetal depende del genotipo y del sistema de cultivo empleado [22, 23]. Aunque el enraizamiento constituye una fase clave del proceso, en el arándano, no siempre se logra de manera completa durante la etapa *in vitro*. Su éxito depende, entre otros factores, de la composición del medio de cultivo, del balance de reguladores de crecimiento y de la capacidad de respuesta del cultivar. Wang et al. reportaron que la combinación de reguladores y el sistema de enraizamiento deben ajustarse específicamente al material vegetal [24]. De manera similar, Zalt et al. confirmaron que la respuesta a auxinas como IBA, IAA y NAA varía entre cultivares de *V. corymbosum*, lo que evidencia que el desarrollo radical no depende únicamente de la presencia de hormonas, sino también de la interacción entre el genotipo y el protocolo aplicado [25].

En ese sentido, la aclimatación *ex vitro* no debe entenderse como una fase puntual y aislada, sino como un proceso gradual de ajuste morfológico y fisiológico. Durante esta etapa, las plántulas pasan de un ambiente controlado a condiciones más variables, con menor humedad relativa, mayor intercambio gaseoso, contacto con el sustrato y fluctuaciones térmicas y lumínicas [26, 27]. En consecuencia, las plantas suelen presentar inicialmente cutículas delgadas, estomas poco funcionales y sistemas radicales insuficientemente consolidados, lo que incrementa su susceptibilidad al estrés hídrico y fotooxidativo [28, 29]. De acuerdo con Grzelak et al., la aclimatación de plantas micropropagadas, especialmente en especies leñosas, debe darse como una transición progresiva hacia condiciones menos favorables, en la que el éxito depende de un cambio gradual del ambiente y de la preparación fisiológica previa del material vegetal [30].

Como resultado, la aclimatación *ex vitro* puede interpretarse como una transición desde una plántula micropropagada hacia un material vegetal más estable y funcionalmente más cercano a un plantín apto para su posterior establecimiento. En el arándano, esta idea

cobra especial importancia, ya que la calidad del sistema radical y la capacidad de ajuste al sustrato y al ambiente externo condicionan el éxito del establecimiento posterior. Por ello, más que una simple transferencia del frasco al vivero, la aclimatación representa una etapa crítica de consolidación estructural y funcional del material vegetal, en la que estrategias de manejo como el control gradual de la humedad, la selección de sustratos adecuados y la optimización del enraizamiento resultan determinantes para reducir pérdidas y mejorar la uniformidad de la población [31, 32, 33].

1.4.Estrés abiótico y mecanismos de defensa en plantas

El estrés vegetal se refiere a cualquier condición que altera la homeostasis fisiológica de la planta, reduciendo su capacidad fotosintética, su desarrollo morfológico y su rendimiento general. La aclimatación *ex vitro* puede considerarse como una etapa de estrés abiótico para las plántulas, en la que se combinan factores como el cambio brusco de humedad relativa, el incremento de la radiación incidente, las oscilaciones térmicas y la exposición a un sustrato no estéril. Desde una perspectiva fisiológica, estas condiciones pueden alterar el balance hídrico y energético de las plantas, afectando la apertura estomática, la eficiencia fotoquímica y el metabolismo respiratorio [28].

Frente a estos estreses, las plantas activan diferentes mecanismos de defensa, entre los que se destacan la acumulación de osmoprotectores, el ajuste del sistema radicular y, de forma central, la activación de sistemas antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos [34]. La sobreproducción de especies reactivas de oxígeno (ROS) es una respuesta común a diversos tipos de estrés abiótico; sin embargo, cuando su nivel excede la capacidad de detoxificación, se genera daño oxidativo en lípidos de membrana, proteínas y pigmentos fotosintéticos [35]. En este contexto, enzimas como la superóxido dismutasa (SOD) y la catalasa (CAT) cumplen un rol clave al convertir el anión superóxido y el peróxido de hidrógeno en moléculas menos reactivas, contribuyendo al mantenimiento de la integridad celular.

Durante la aclimatación *ex vitro*, el éxito en el establecimiento de las plántulas dependerá, en gran medida, de su capacidad para activar estos mecanismos de defensa y restablecer un equilibrio entre la generación y detoxificación de ROS [28, 29, 34]. Por ello, variables como la supervivencia, la biomasa, la fluorescencia de clorofila (Fv/Fm), el contenido

relativo de agua, los pigmentos fotosintéticos y la actividad de enzimas antioxidantes se utilizan como indicadores integrados del estado fisiológico de las plantas bajo estas condiciones [36].

1.5. Bioestimulantes agrícolas como herramienta para mitigar el estrés

Los bioestimulantes agrícolas se definen como sustancias o microorganismos aplicados a las plantas o al suelo con el fin de mejorar la eficiencia de absorción de nutrientes, aumentar la tolerancia al estrés biótico y abiótico y mejorar la calidad del cultivo [37]. En esta categoría se incluyen extracto de algas, sustancias húmicas y fúlvicas, hidrolizados de proteínas, compuestos de origen microbiano (bacterias y hongos micorrícicos), y compuestos inorgánicos con funciones biológicas y fisiológicas [37].

Diversos estudios apuntan a la influencia de los bioestimulantes en una mejora significativa del rendimiento y calidad de cultivos como frutas y hortalizas, contribuyendo con la reducción del uso de plaguicidas y fertilizantes que se usan en la agricultura convencional [38-42]. Además, algunos estudios indican que estos productos pueden contribuir a reducir la dosis de fertilizantes sintéticos y fitosanitarios, lo que los convierte en herramientas potencialmente útiles para avanzar hacia sistemas de producción más sostenibles [29, 34, 43]. Un metaanálisis reciente muestra que, en promedio, los bioestimulantes incrementan el rendimiento en diferentes cultivos bajo condiciones de campo, reforzando su papel como insumos estratégicos para la agricultura sostenible [44]. En este sentido, su aplicación durante la aclimatación *ex vitro* de plantas micropropagadas podría representar una estrategia interesante para reducir el impacto del estrés y aumentar la proporción de plántulas que llegan en buenas condiciones a la fase de campo.

1.6. Extractos de algas marinas: composición y efectos en cultivos

Dentro del grupo de bioestimulantes, los extractos de algas marinas han adquirido especial relevancia por la diversidad de compuestos bioactivos que concentran [45, 46]. Estos extractos pueden incluir fitohormonas (auxinas, citoquininas, giberelinas), aminoácidos libres, péptidos, vitaminas, polisacáridos sulfatados, fenoles y otros metabolitos secundarios con capacidad para modular el crecimiento y la respuesta al

estrés en plantas [47]. La composición específica varía dependiendo de la especie de alga (parda, roja o verde), la región de cosecha y el método de extracción utilizado [47, 48].

Estudios en distintos cultivos han reportado que los extractos de algas pueden aumentar la longitud y la superficie radicular, mejorar el crecimiento aéreo, incrementar el contenido de clorofilas y carotenoides, y potenciar la actividad del sistema antioxidante. En el estudio de Sujeeth et al., se demuestra como el extracto de *Ascophyllum nodosum*, una macroalga parda, incrementa la biomasa y la calidad nutricional de plantas de espinaca en un medio *in vitro* [48]. Otro estudio, realizado por Staropoli et al., menciona una relación positiva entre el uso del extracto de *A. nodosum* y capas de mulching biodegradable en un cultivo industrial de tomates (*Solanum lycopersicum* var. Heinz 5108F1) como una alternativa sustentable para la agricultura [49].

Asimismo, otras macroalgas, como *Saccorhiza polyschides* (alga parda) y *Gracilaria gracilis* y *Chondrus crispus* (algas rojas), fueron utilizadas para la extracción de tres polisacáridos en el estudio de Mamede et al. con resultados positivos en el crecimiento y desarrollo en cultivos de nabo (*Brassica napus* L.) [50]. Otros hallazgos refuerzan las propiedades de los extractos de algas y su efecto positivo bajo condiciones de estrés hídrico, como en el estudio de Lenart et al. [32], y el incremento del rendimiento y calidad en diferentes condiciones climáticas, propuestas en el estudio de Lopes et al. [51] ambos en cultivos de arándano (*V. corymbosum*). Otros trabajos muestran que la aplicación de bioestimulantes con extractos de algas incrementa la tolerancia al déficit hídrico en arándano de arbusto alto, asociada a ajustes osmorreguladores y a una mayor estabilidad del aparato fotosintético [29].

En el caso de *V. corymbosum*, se ha observado que la aplicación de extractos de algas puede mejorar el crecimiento vegetativo, el estado hídrico y la respuesta frente a déficit hídrico, así como influir positivamente en parámetros de rendimiento y calidad de fruto [32, 51]. Estos resultados refuerzan la idea de que los extractos de algas marinas pueden ser herramientas útiles no sólo en etapas productivas, sino también en fases tempranas como la aclimatación de plántulas micropropagadas.

1.7. Brecha de conocimiento en la aclimatación *ex vitro* de ‘Emerald’

A pesar de la creciente evidencia sobre los efectos positivos de los extractos de algas marinas en distintos cultivos, la información disponible sobre su uso durante la aclimatación *ex vitro* de plántulas micropropagadas de arándano es todavía limitada. La mayoría de los estudios en *V. corymbosum* se han centrado en plantas ya establecidas en campo o en condiciones de producción, evaluando variables de crecimiento, rendimiento, calidad de fruto o respuesta al estrés en etapas productivas. En contraste, son pocos los trabajos que analizan de manera específica el papel de estos bioestimulantes en fases tempranas del establecimiento *ex vitro*, particularmente cuando las plantas, aún después del endurecimiento inicial, continúan en proceso de ajuste al ambiente de vivero [52]. Esta carencia resulta relevante porque, en la práctica, el material vegetal puede ingresar al vivero con un nivel de enraizamiento y estabilización todavía heterogéneo, por lo que la respuesta posterior no depende únicamente del éxito del endurecimiento inicial, sino también de la capacidad de las plántulas para continuar su ajuste estructural y funcional bajo condiciones menos controladas [20, 30].

En el caso particular de la variedad ‘Emerald’, la literatura es aún más escasa. Si bien se reconoce su importancia en los sistemas de producción de arándano en climas cálidos y su buen desempeño agronómico [8-11], no se dispone de suficiente información sobre el efecto de diferentes bioestimulantes a base de algas marinas en plántulas procedentes de cultivo *in vitro* durante la aclimatación *ex vitro*. Esta brecha de conocimiento dificulta la formulación de recomendaciones técnicas específicas para viveristas y productores que utilizan micropropagación para establecer plantaciones de ‘Emerald’.

1.8. Justificación y relevancia del estudio

Considerando la importancia económica del arándano en el Perú, el crecimiento de la variedad ‘Emerald’ en los sistemas productivos y la sensibilidad del material micropropagado durante su establecimiento en vivero, resulta pertinente evaluar estrategias que contribuyan a mejorar el desempeño de las plántulas en esta fase. En particular, los bioestimulantes a base de extractos de algas marinas representan una opción prometedora por su potencial para modular procesos de crecimiento, respuesta al estrés y metabolismo vegetal, como ha sido señalado en revisiones recientes sobre su uso en horticultura y cultivos frutales [48, 53].

La relevancia de este estudio radica en que permite evaluar formulaciones comerciales de uso real sobre plántulas micropropagadas de arándano variedad ‘Emerald’ durante una etapa de establecimiento en vivero, en la que el material vegetal aún no ha alcanzado una condición plenamente consolidada. Desde el punto de vista aplicado, los resultados pueden aportar criterios para optimizar el manejo en viveros especializados, mejorar la uniformidad del material vegetal y reducir pérdidas durante una fase clave del proceso productivo. Desde el punto de vista científico, el estudio resulta pertinente porque integra indicadores de supervivencia, crecimiento, estado fisiológico y respuesta bioquímica, lo que permite una evaluación más completa del efecto de los bioestimulantes sobre el desempeño de las plántulas en condiciones de aclimatación *ex vitro*. En este estudio, la aclimatación *ex vitro* se abordó específicamente en una fase avanzada del proceso, una vez superada la transición inicial desde el sistema *in vitro* y tras un periodo previo de endurecimiento y estabilización en vivero. Por tanto, las conclusiones deben interpretarse dentro de ese alcance experimental.

II. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es el efecto de la aplicación foliar de bioestimulantes comerciales a base de extractos de algas marinas sobre el crecimiento de plántulas de arándano variedad ‘Emerald’ durante la etapa de aclimatación *ex vitro*?

III. HIPÓTESIS

Si se aplican vía foliar bioestimulantes comerciales a base de extractos de algas marinas en plántulas propagadas *in vitro* de arándano variedad ‘Emerald’, entonces éstas presentarán mayor supervivencia, biomasa, área foliar y desempeño fisiológico durante la etapa de aclimatación *ex vitro*, en comparación con el control.

IV. OBJETIVOS

4.1.Objetivo general

Evaluar comparativamente la eficacia de cuatro bioestimulantes comerciales a base de extractos de algas marinas, aplicados vía foliar, en la promoción del de plántulas de arándano variedad ‘Emerald’ durante la etapa de aclimatación *ex vitro*.

4.2.Objetivos específicos

- Analizar los parámetros morfológicos, fisiológicos y bioquímicos de las plántulas de arándano variedad ‘Emerald’ tratadas y no tratadas con bioestimulantes, frente al estrés abiótico asociado a la aclimatación *ex vitro*.
- Determinar la tasa de supervivencia de las plántulas durante la aclimatación *ex vitro* para los tratamientos con bioestimulantes y el grupo control.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Material vegetal, endurecimiento y condiciones de aclimatación *ex vitro*

Las plántulas de arándano de la variedad ‘Emerald’ *in vitro* se obtuvieron del Programa de Cereales y Granos Nativos de la Universidad Nacional Agraria La Molina. Los frascos contuvieron un aproximado de 20 plántulas producidas a partir de segmentos nodales, sin un sistema radicular desarrollado, sin contaminación y con un crecimiento homogéneo. Las plántulas fueron extraídas cuidadosamente de los frascos y enjuagadas con agua destilada para eliminar residuos del medio de cultivo. Posteriormente, se trasplantaron a bandejas almacigueras que contenían sustrato TS1 Aranmix 8 (80% turba y 20% perlita, v/v).

Las bandejas se cubrieron con plástico transparente para mantener una humedad constante y fueron trasladadas al cuarto de cultivo *in vitro* del Laboratorio de Investigación y Desarrollo (LID) bajo condiciones controladas: temperatura de 22 ± 2 °C y baja intensidad lumínica inicial, que se incrementó gradualmente con el fin de favorecer el endurecimiento. La temperatura y la humedad relativa del ambiente fueron monitoreadas periódicamente mediante un termohigrómetro digital. En estas condiciones, las plántulas permanecieron durante 45 días, en una etapa de endurecimiento o pre-acondicionamiento inicial, orientada a favorecer la adaptación temprana al nuevo soporte físico y al desarrollo progresivo del sistema radicular. Durante este periodo, el riego se realizó exclusivamente con agua destilada.

Finalizado este periodo, las bandejas fueron trasladadas a un vivero al aire libre en la sede central de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, donde permanecieron 14 días adicionales bajo condiciones menos controladas, con el fin de completar su estabilización y consolidar una población experimental viable. Durante esta fase se continuó con riegos regulares con agua reposada. En conjunto, la etapa de endurecimiento, el periodo de estabilización en vivero y la fase experimental se desarrollaron entre los meses de Agosto y Noviembre de 2025. Como referencia contextual del periodo experimental, las condiciones ambientales generales de temperatura y humedad relativa se registraron con base en los reportes del Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología (SENAMHI) para el distrito de San Martín de Porres. Estos registros se utilizaron únicamente como

referencia climática general del periodo de estudio y no como una caracterización puntual de cada unidad experimental.

Una vez transcurrida esta fase de establecimiento previo, se inició la aplicación de los bioestimulantes. En consecuencia, los tratamientos se evaluaron sobre plántulas que ya habían superado la fase inicial de transición desde el sistema *in vitro*, pero que aún se encontraban en proceso de ajuste al ambiente *ex vitro* de vivero; con lo cual el efecto de los bioestimulantes se analizó en una fase posterior del proceso de aclimatación *ex vitro* (Anexo 2). El seguimiento de las condiciones ambientales se organizó en tres intervalos experimentales: días 1-14, días 15-28 y días 29-42.

5.2. Bioestimulantes comerciales y tratamientos

Se evaluaron cuatro bioestimulantes comerciales a base de extractos de algas marinas y un tratamiento control sin aplicación de producto. Los tratamientos fueron: T0 (control), T1 (GROW MORE Seaweed Extract, extracto de *Ascophyllum nodosum*), T2 (ALGAX, Comercial Andina Industrial S.A.C., extracto de *Ascophyllum nodosum*), T3 (BÄRIG Red, extracto de *Kappaphycus alvarezii*) y T4 (Basfoliar Algae, extracto de *Durvillaea antarctica*).

Para cada producto se prepararon soluciones de trabajo en agua destilada siguiendo las recomendaciones de dosis indicadas por el fabricante (Tabla 1). Las aplicaciones se realizaron por vía foliar mediante pulverización fina con un atomizador manual, procurando cubrir homogéneamente la superficie de las hojas sin generar escurrimientos excesivos.

Tabla 1. Dosis recomendada para cada producto indicadas por el fabricante.

Tratamiento	Marca	Extracto de origen	Dosis recomendada
T1	GROW MORE Seaweed Extract	<i>Ascophyllum nodosum</i>	1 L en 200 L
T2	ALGAX, Comercial Andina Industrial S.A.C.	<i>Ascophyllum nodosum</i>	2 L en 200 L
T3	BÄRIG Red	<i>Kappaphycus alvarezii</i>	0.5 L en 200 L
T4	Basfoliar Algae	<i>Durvillaea antarctica</i>	2 L en 200 L

En total se efectuaron tres aplicaciones durante la fase de aclimatación en vivero: la primera se realizó al inicio del ensayo, la segunda al día 15 y la tercera al día 29. El tratamiento control (T0) recibió únicamente agua con la misma frecuencia que los tratamientos con bioestimulantes. Todas las plantas se manejaron bajo las mismas condiciones de riego, sustrato y ambiente; la única diferencia entre tratamientos fue el tipo de solución aplicada.

5.3.Diseño experimental

Se empleó un diseño completamente al azar con cinco tratamientos (T0 - T4) y cinco repeticiones. Cada repetición estuvo constituida por diez plántulas, distribuidas de manera homogénea en bandejas. La unidad experimental correspondió a cada repetición, conformada por un conjunto de diez plántulas bajo la misma condición de tratamiento dentro del vivero. Las unidades experimentales se ubicaron aleatoriamente en el área de ensayo. Considerando la homogeneidad inicial del material vegetal, el tamaño del experimento y el manejo uniforme aplicado a todas las unidades, se consideró adecuado el uso de este diseño. Además, se realizó la rotación de bandejas cuando fue necesario, con el fin de reducir la influencia de posibles gradientes ambientales, principalmente de luz y temperatura.

5.4.Tasa de supervivencia

Al final del periodo de aclimatación se registró, para cada repetición, el número de plantas vivas y el número total de plantas iniciales. La tasa de supervivencia se calculó mediante:

$$Supervivencia (\%) = \frac{\text{número de plantas vivas}}{\text{número de plantas iniciales}} \times 100$$

El valor porcentual de cada repetición se utilizó posteriormente en el análisis estadístico.

5.5.Variables morfológicas

Altura: Se midió la altura de las plántulas desde la base del tallo hasta el ápice del brote principal utilizando una regla milimetrada. En el caso de la dinámica de crecimiento, se realizaron mediciones sucesivas antes de cada aplicación de bioestimulante y una

medición final al término del periodo de aclimatación; la altura final se empleó para el análisis de comparación entre tratamientos.

Área foliar: Se seleccionaron 10 hojas completamente expandidas de cada repetición. Las hojas fueron fotografiadas individualmente junto a una escala de referencia utilizando una cámara digital. Las imágenes fueron procesadas mediante el software ImageJ para calcular el área total de cada hoja. Posteriormente, se obtuvo el área foliar total mediante la suma de todas las áreas individuales, expresadas en centímetros cuadrados. El valor promedio de área foliar por repetición se empleó en el análisis estadístico.

Biomasa seca total: En cada repetición se seleccionaron aleatoriamente tres plántulas. Estas fueron retiradas de las bandejas y fraccionadas en parte aérea (tallos y hojas) y parte radicular con sustrato adherido. No se realizó lavado de raíces, ya que el sistema radical había colonizado completamente la celda y las plántulas se extraían con el sustrato en forma de bloque compacto. En esas condiciones, la remoción del sustrato o el lavado podían ocasionar pérdida de raicillas finas y, en consecuencia, subestimar la biomasa radicular. Ambas fracciones de cada plántula se secaron conjuntamente en una bolsa de papel en una estufa a 60 °C hasta alcanzar peso constante.

Para corregir el aporte del sustrato, en paralelo, se secaron tres muestras de sustrato sin plántula, correspondientes cada una al volumen completo de una celda de la bandeja almaciguera (150 cm³), bajo las mismas condiciones de secado. A partir de estas tres muestras se obtuvo un peso seco promedio de referencia de 17.8 g, el cual se utilizó para estimar la biomasa seca total por plántula mediante sustracción del peso seco final de cada muestra. Posteriormente, se calculó el promedio de biomasa seca total de las tres plántulas evaluadas en cada repetición, y dicho promedio se utilizó en el análisis estadístico.

5.6. Variables fisiológicas

Fluorescencia de la clorofila (Fv/Fm): La eficiencia fotoquímica máxima del fotosistema II (PSII) se evaluó mediante la razón de fluorescencia variable máxima Fv/Fm, donde Fv corresponde a la fluorescencia variable, calculado como Fm-F0, Fm a la fluorescencia máxima y F0 a la fluorescencia mínima. Esta relación se considera un indicador del estado funcional del PSII. La medición se realizó en hojas completamente

expandidas de las plántulas de arándano. Para cada tratamiento se seleccionaron hojas de la parte media de la planta, se tomaron 5 hojas por repetición, evitando hojas dañadas o sombreadas por otras estructuras.

Las mediciones se realizaron al final del periodo de tratamientos, en una franja horaria constante para minimizar la variación diurna. Previamente a cada lectura, las hojas seleccionadas se mantuvieron en oscuridad durante 30 minutos. Transcurrido el tiempo, se ubicó un clip foliar en la parte inferior de las hojas y se registró directamente el valor de F_v/F_m mediante un fluorómetro portátil acoplado al clip foliar [54]. Los valores obtenidos para las hojas de cada repetición se promediaron y se consideraron como el valor representativo de fluorescencia de clorofila por repetición para el análisis estadístico.

Contenido relativo de agua (RWC): El contenido relativo de agua se evaluó en hojas jóvenes completamente expandidas con el fin de estimar el estado hídrico del tejido foliar. Para cada tratamiento y repetición se seleccionó un total de 10 hojas de la parte media de las plantas, evitando hojas con daños mecánicos o síntomas visibles de estrés.

Inmediatamente después de la recolección, las 10 hojas de cada repetición se pesaron juntas en una balanza para obtener el peso fresco (PF) del conjunto. A continuación, las hojas se colocaron en vasos con agua destilada, manteniendo los pecíolos sumergidos, y se dejaron en reposo en oscuridad a temperatura ambiente durante 24 horas, hasta alcanzar la máxima turgencia. Transcurrido este tiempo, se retiró el exceso de agua de la superficie con papel absorbente y se determinó el peso del conjunto de hojas, registrado como peso turgente (PT).

Posteriormente, las hojas se introdujeron en bolsas de papel y se secaron en estufa a 60 °C hasta alcanzar peso constante, registrándose el peso seco (PS) del conjunto de hojas. Con estos valores se calculó el contenido relativo de agua mediante la ecuación [55]:

$$RWC (\%) = \left[\frac{PF - PS}{PT - PS} \right] \times 100$$

Cada repetición estuvo representada por un único valor de RWC calculado a partir del conjunto de 10 hojas, y estos valores se utilizaron directamente en el análisis estadístico comparativo entre tratamientos.

5.7. Variables bioquímicas

Las variables bioquímicas fueron realizadas en el Laboratorio de Genómica Funcional del LID, que proporcionó el apoyo con equipos y reactivos necesarios para las determinaciones correspondientes.

Pigmentos fotosintéticos: El contenido de pigmentos fotosintéticos se evaluó en hojas jóvenes, con el objetivo de estimar el estado del aparato fotosintético bajo los diferentes tratamientos. Para cada tratamiento y repetición se recolectaron fragmentos foliares equivalentes a 2-3 hojas completamente expandidas, evitando tejido con daños mecánicos.

Las muestras se pesaron en balanza analítica, obteniéndose aproximadamente 20 mg de peso fresco por muestra. El tejido se transfirió a tubos Eppendorf de 2 ml y se añadió 1 ml de acetona al 80 % (v/v). Los tubos se mantuvieron en oscuridad a 4 °C durante 24 horas, con el fin de favorecer la extracción completa de los pigmentos. Transcurrido este tiempo, las muestras se centrifugaron a 12 000 rpm durante 10 minutos. El sobrenadante fue utilizado para las lecturas espectrofotométricas.

La absorbancia de los extractos se midió en un espectrofotómetro UV-Vis (Genesys 10S UV-Vis, Thermo scientific) a 663, 645 y 470 nm, utilizando acetona al 80% como blanco. A partir de las absorbancias se calcularon las concentraciones de clorofila a (C_a), clorofila b (C_b) y carotenoides totales (C_{x+c}) siguiendo las ecuaciones descritas según el método de Lichtenthaler y Wellburn (1983), adaptadas para extractos en acetona [56]:

$$\begin{aligned}C_a &= 12.21A_{663} - 2.81A_{645} \\C_b &= 20.13A_{645} - 5.06A_{663} \\C_{x+c} &= \frac{1000A_{470} - 3.27C_a - 104C_b}{229}\end{aligned}$$

donde C_a , C_b y C_{x+c} corresponden a clorofila a, clorofila b y carotenoides totales respectivamente. Los resultados se ajustaron al volumen de extracción y al peso fresco de tejido utilizado, expresándose como mg de pigmento por gramos de peso fresco (mg g^{-1} PF). A partir de estos valores se calcularon además las clorofilas totales (a+b) y relaciones derivadas entre pigmentos, que se emplearon en el análisis comparativo entre tratamientos.

Actividad enzimática antioxidante: La actividad de las enzimas antioxidantes catalasa (CAT) y superóxido dismutasa (SOD) se determinó a partir de extractos enzimáticos de tejido foliar fresco, con el fin de evaluar la respuesta antioxidante de las plántulas sometidas a los diferentes bioestimulantes. Se recolectaron hojas jóvenes, evitando tejido senescente o dañado. De cada muestra se pesaron 50 mg de tejido foliar, que se homogeneizaron usando (TissueLyser II, Qiagen) con 2 ml de buffer fosfato de potasio 50 mM suplementado con polivinilpirrolidona (PVP) al 1% (p/v).

El homogeneizado se centrifugó a 10 000 rpm durante 20 minutos a 4 °C. El sobrenadante recuperado se utilizó de inmediato como extracto enzimático crudo para los ensayos de CAT y SOD.

Actividad de catalasa (CAT): La actividad de catalasa se determinó midiendo la disminución de la absorbancia asociada a la descomposición del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) a 240 nm utilizando el coeficiente de extinción molar del H_2O_2 de $39.4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, de acuerdo con Barzotto et al. [57]. Para cada reacción se preparó una mezcla con un volumen final de 2 ml compuesta por 1 800 μL de buffer fosfato 50 mM, peróxido de hidrógeno (H_2O_2) 10 mM y 200 μL del extracto enzimático crudo.

Tras la adición del extracto, se inició de inmediato la lectura en el espectrofotómetro UV-Vis (Genesys 10S UV-Vis, Thermo scientific), registrándose la absorbancia a 240 nm durante 1 minuto, con intervalos de 15 segundos. A partir de la pendiente de la curva de absorbancia por minuto ($\Delta A_{240}/\text{min}$) y del coeficiente de extinción molar del H_2O_2 se calculó la velocidad de descomposición del sustrato.

Los resultados se expresaron como μmol de H_2O_2 degradado por minuto y por gramo de peso fresco de tejido ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ PF}$).

Actividad de superóxido dismutasa (SOD): La actividad de superóxido dismutasa (SOD) se determinó mediante el método basado en la inhibición de la reducción del nitroazul de tetrazolio (NBT), inducida por radicales superóxido generados fotoquímicamente en presencia de riboflavina y metionina. Las reacciones se llevaron a cabo en un volumen final de 1 ml compuesto por buffer fosfato de potasio 50 mM, metionina 9 μM , riboflavina 10 μM , NBT 75 μM y 100 μL de extracto enzimático crudo [58].

Se prepararon un control expuesto a luz (mezcla completa sin extracto) y un blanco oscuro (mezcla completa sin extracto mantenida en oscuridad). El control y las muestras se expusieron a luz blanca durante 15 minutos, tras lo cual se midió la absorbancia a 560 nm en un espectrofotómetro UV-Vis (Genesys 10S UV-Vis, Thermo scientific), utilizando el blanco oscuro para ajustar el cero. El porcentaje de inhibición de la reducción del NBT se calculó mediante la ecuación:

$$\% \text{ inhibición} = \frac{A_{\text{control}} - A_{\text{muestra}}}{A_{\text{control}}} \times 100$$

donde A_{control} corresponde a la absorbancia del control expuesto a luz y sin extracto y A_{muestra} a la absorbancia de cada reacción con extracto enzimático. Los resultados se expresaron como porcentaje de inhibición de la reducción del NBT, utilizado como indicadore relativo de la actividad de SOD en las muestras de tejido foliar.

5.8. Análisis estadístico

Los datos obtenidos se organizaron por tratamiento y repetición. Para la tasa de supervivencia, expresada como porcentaje, se aplicó la transformación $\arcsin(\sqrt{p/100})$ antes del análisis, debido a su naturaleza proporcional [59]. El resto de variables (altura de la parte aérea, área foliar, biomasa seca total, Fv/Fm, RWC, pigmentos fotosintéticos y actividad enzimática antioxidante de CAT y SOD) se analizó sobre los valores originales por tratarse de variables continuas.

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía para evaluar el efecto de los tratamientos (T0 - T4) sobre cada variable de respuesta. Previamente se verificó la homogeneidad de varianzas mediante la prueba de Levene. Cuando el ANOVA indicó diferencias significativas ($p \leq 0.05$), se aplicó la prueba de comparación múltiple Tukey para identificar los tratamientos que difirieron entre sí.

Para la variable biomasa seca total, las tres plántulas evaluadas dentro de cada repetición se consideraron submuestras. El promedio de biomasa seca total de esas tres plántulas se utilizó como un único valor por repetición. En consecuencia, el análisis estadístico de esta variable se realizó con cinco valores independientes por tratamiento ($n = 5$).

Los análisis estadísticos se llevaron a cabo utilizando el software JASP (versión 0.95.4), y los resultados se expresaron como media $\pm$ desviación estándar para cada tratamiento.

VI. RESULTADOS

6.1. Condiciones ambientales

Se registraron diariamente la temperatura mínima, la temperatura máxima y la humedad relativa del ambiente. Dado que los bioestimulantes se aplicaron una vez cada 14 días, los registros se agruparon en tres intervalos que corresponden a los periodos comprendidos entre aplicaciones: Periodo I (días 1-14), Periodo II (días 15-28) y Periodo III (días 29 - 42). Durante el Periodo I, la temperatura mínima y máxima medias fueron de 15.79 ± 1.67 °C y 20.93 ± 1.94 °C, respectivamente; mientras que la humedad relativa media fue de 85.43 ± 5.12 %. En el Periodo II, la temperatura mínima media fue de 15.50 ± 0.65 °C, la temperatura máxima de 21.07 ± 1.69 °C y la humedad relativa de 83.71 ± 5.41 %. Finalmente, en el Periodo III, la temperatura mínima media fue de 16.07 ± 0.83 °C, la temperatura máxima de 22.50 ± 1.22 °C y la humedad relativa de 86.07 ± 4.32 % (Tabla 2).

Tabla 2. Condiciones ambientales registradas en los intervalos de 14 días entre aplicaciones de bioestimulantes durante la aclimatación *ex vitro*.

Periodo experimental	Temperatura mínima (°C)	Temperatura máxima (°C)	Humedad relativa (%)
Periodo I	15.79 ± 1.67	20.93 ± 1.94	85.43 ± 5.12
Periodo II	15.50 ± 0.65	21.07 ± 1.69	83.71 ± 5.41
Periodo III	16.07 ± 0.83	22.50 ± 1.22	86.07 ± 4.32
Media total	15.79 ± 1.14	21.50 ± 1.76	85.07 ± 4.96

Cuadro 1: Síntesis general del efecto de los bioestimulantes sobre las variables evaluadas en plántulas de arándano ‘Emerald’.

S: efecto significativo del tratamiento en el ANOVA

NS: efecto no significativo

↑: valor mayor con respecto al control

↓: valor menor respecto al control

†: ANOVA significativo, pero sin diferencias entre tratamiento en Tukey

Tipo de variable	Variable	Tratamiento	T1	T2	T3	T4
Supervivencia	Tasa de supervivencia	S	↑	NS	NS	↑
Morfológica	Crecimiento en el tiempo	NS*	NS	NS	NS	NS
	Altura final	NS	NS	NS	NS	NS
	Área foliar	S	NS	↓	NS	↑
	Biomasa seca total	S	NS	NS	↑	↑
Fisiológica	Fluorescencia (Fv/Fm)	S [†]	NS	NS	NS	NS
	RWC	NS	NS	NS	NS	NS
Bioquímica	Clorofila a (Ca)	S	↑	↑	↑	↑
	Clorofila b (Cb)	S	↑	↓	↑	↑
	Clorofila total (C(a+b))	S	↑	↓	↑	↑
	Carotenoides totales (C(x+c))	S	↑	↑	↑	↑
	Relación a/b	S	↑	↑	↑	↑
	Relación (a+b)/(x+c)	S	↑	↓	↓	↓
	CAT	S	↑	↓	↓	↓
	SOD	NS	NS	NS	↓	↑
			NS	NS	NS	NS

*: Tiempo significativo; tratamiento e interacción tratamiento x tiempo no significativos.

6.2.Tasa de supervivencia

La tasa de supervivencia tras la aclimatación *ex vitro* fue alta en todos los tratamientos, con valores medios que oscilaron entre 86% y 100% (Tabla 3). El tratamiento T2 presentó la menor supervivencia (86 ± 11.4 %), seguido del control T0 (88 ± 8.37 %), mientras que T1 y T4 alcanzaron el 100% de supervivencia, sin variación entre repeticiones. El tratamiento T3 mostró un valor intermedio, con una supervivencia promedio de 98 ± 4.47 %. La figura 1 ilustra gráficamente estas diferencias, mostrando el incremento en la supervivencia en los tratamientos T1, T3 y T4 en comparación con T0 y T2.

Para el análisis estadístico, los porcentajes de supervivencia se transformaron mediante la función arcoseno de la raíz cuadrada y se ajustó un ANOVA de una vía (Anexo 3). El efecto del tratamiento fue significativo ($p = 0.001$), con un tamaño de efecto moderado ($\eta^2 = 0.579$), lo que indica que aproximadamente el 58% de la variación total en la supervivencia se explicó por las diferencias entre tratamientos. De acuerdo con la prueba de Tukey aplicada a los datos transformados (Anexo 4), los tratamientos T1 y T4 se agruparon en el nivel más alto de supervivencia, diferenciándose de T2, mientras que T0 y T3 se ubicaron en un nivel intermedio, tal como se resume en las letras de agrupamiento mostradas en la Tabla 3.

Tabla 3. Porcentaje de supervivencia transformados para análisis estadístico.

Tratamiento	Supervivencia media (%)
T0	88.0 ± 8.37^a
T1	100.0 ± 0.00^b
T2	86.0 ± 11.40^c
T3	98.0 ± 4.47^d
T4	100.0 ± 0.00^b

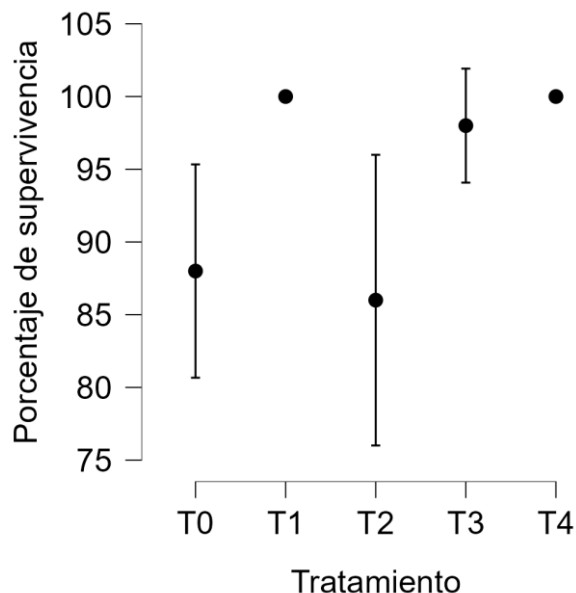


Figura 1. Intervalos de confianza al 95% para la tasa de supervivencia *ex vitro* en función de los tratamientos con bioestimulantes.

6.3. Variables morfológicas

Las variables morfológicas mostraron respuestas diferenciadas según la variable analizada, según lo muestra la Tabla 4. En el análisis de la altura final no se detectaron diferencias significativas entre tratamientos ($p = 0.626$) (Anexo 5). Los valores medios variaron entre 11.76 ± 0.78 cm en T3 y 12.84 ± 1.51 cm en T2, mientras que T0, T1 y T4 presentaron medias de 12.19 ± 0.52 , 12.64 ± 1.15 y 12.61 ± 1.63 cm, respectivamente.

En el caso del crecimiento en altura a lo largo del tiempo, el ANOVA de medidas repetidas mostró un efecto significativo del factor tiempo ($p < 0.001$), mientras que el efecto del tratamiento ($p = 0.781$) y la interacción tiempo x tratamiento ($p = 0.315$) no fueron significativos (Anexo 6 y 7). La representación gráfica del crecimiento mostró un incremento progresivo de la altura entre la primera y la última medición en todos los tratamientos Figura 2.

En contraste, el área foliar y la biomasa seca total sí presentaron diferencias significativas entre tratamientos Tabla 4 y Figura 3. Para el área foliar, el ANOVA mostró un efecto significativo del tratamiento ($p = 0.017$) (Anexo 8). Los valores medios oscilaron entre 3.237 ± 0.488 cm² en T2 y 4.324 ± 0.696 cm² en T4. La prueba de Tukey mostró una diferencia significativa entre T2 y T4 ($p = 0.027$), mientras que T0, T1 y T3 compartieron

una posición intermedia. Para biomasa seca total, el ANOVA indicó diferencias significativas entre tratamientos ($p = 0.005$) (Anexo 9). Los mayores valores medios corresponden a T3 (11.88 ± 2.13) y T4 (11.72 ± 1.90), seguidos por T1 (9.73 ± 3.42), mientras que T0 y T2 presentaron los valores más bajos (6.08 ± 3.76 y 6.33 ± 2.04 , respectivamente). Según la prueba post hoc, T3 y T4 difieren significativamente de T0 y T2.

Tabla 4. Media $\pm$ desviación estándar de la altura final, área foliar y biomasa seca total.

Tratamiento	Variables morfológicas		
	Altura final (cm)	Área foliar (cm ²)	Biomasa seca total (g)
T0	12.19 ± 0.522	3.586 ± 0.363^{ab}	6.078 ± 3.758^a
T1	12.64 ± 1.151	4.218 ± 0.333^{ab}	9.732 ± 3.416^{ab}
T2	12.84 ± 1.508	3.237 ± 0.488^a	6.326 ± 2.040^a
T3	11.76 ± 0.775	3.605 ± 0.637^{ab}	11.88 ± 2.134^b
T4	12.61 ± 1.631	4.324 ± 0.696^b	11.72 ± 1.899^b

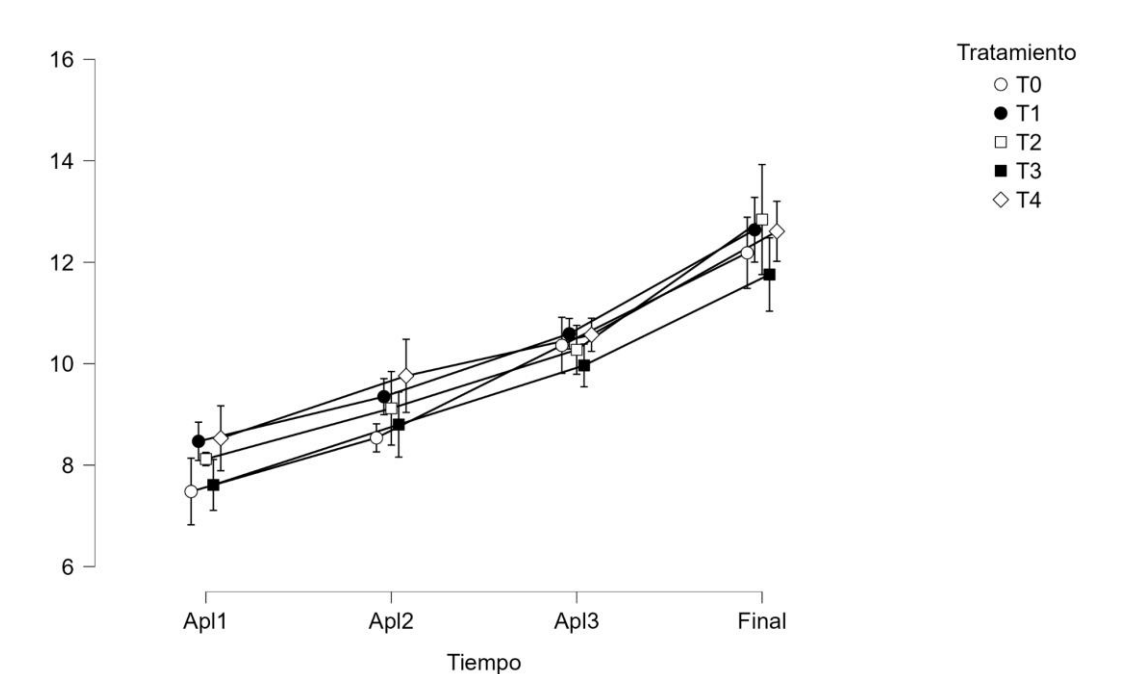


Figura 2. Crecimiento en el tiempo en cm a través de los tiempos de aplicación.

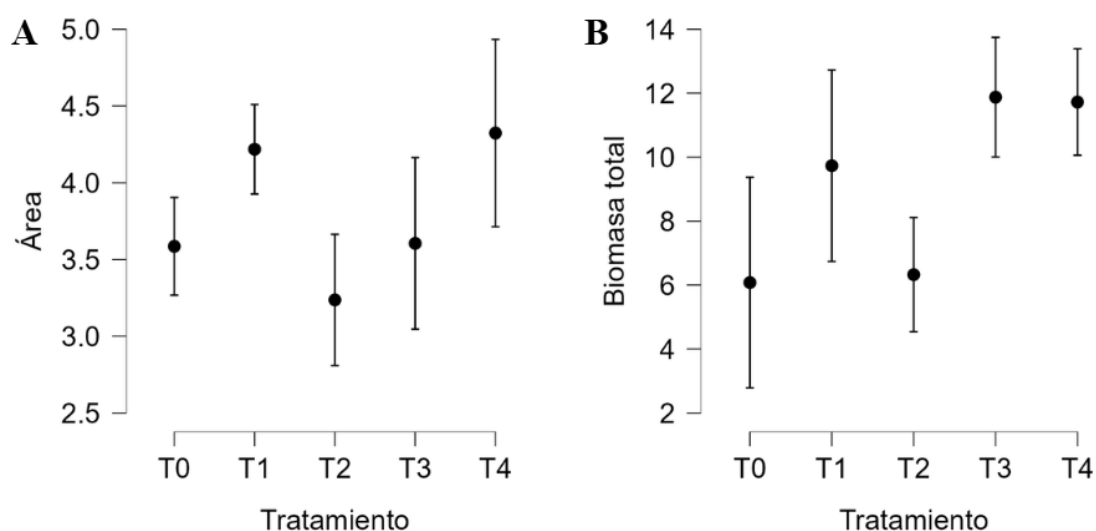


Figura 3. Valores medios y barras de error (intervalos de confianza al 95%) de área foliar (A) y biomasa seca total (B).

6.4. Variables fisiológicas

Las variables evaluadas fueron la fluorescencia de clorofila (F_v/F_m) y el contenido relativo de agua (RWC). La fluorescencia de clorofila (F_v/F_m) mostró valores medios entre 0.700 y 0.722 según el tratamiento. El control (T0) y T1 presentaron las medias más altas (0.722 ± 0.013 y 0.722 ± 0.008 , respectivamente), mientras que T2, T3 y T4 mostraron valores medios de 0.700 ± 0.022 , 0.702 ± 0.015 y 0.702 ± 0.008 , respectivamente (Tabla 5, Figura 4A). El ANOVA indicó un efecto significativo del tratamiento sobre F_v/F_m ($p = 0.038$), aunque la comparación múltiple de Tukey no evidenció diferencias significativas entre tratamientos (Anexo 10 y 11).

En el caso del contenido relativo de agua (RWC), los valores medios se mantuvieron elevados en todos los tratamientos, con un rango de 79.78% a 87.82%. El tratamiento T3 presentó el mayor RWC (87.82 ± 3.23 %), seguido de T4 (83.17 ± 9.82 %) y T1 (81.79 ± 6.50 %), mientras que T0 y T2 mostraron valores similares (79.78 ± 3.95 % y 80.12 ± 11.15 %, respectivamente) (Tabla 5, Figura 4B). A pesar de las diferencias numéricas, el ANOVA no mostró un efecto significativo del tratamiento sobre RWC ($p = 0.474$) (Anexo 12).

Tabla 5. Media $\pm$ desviación estándar de la fluorescencia de clorofila (Fv/Fm) y del contenido relativo de agua (RWC).

Tratamiento	Variables fisiológicas	
	Fv/Fm	RWC (%)
T0	0.722 ± 0.013	79.78 ± 3.95
T1	0.722 ± 0.008	81.79 ± 6.50
T2	0.700 ± 0.022	80.12 ± 11.15
T3	0.702 ± 0.015	87.82 ± 3.23
T4	0.702 ± 0.008	83.17 ± 9.82

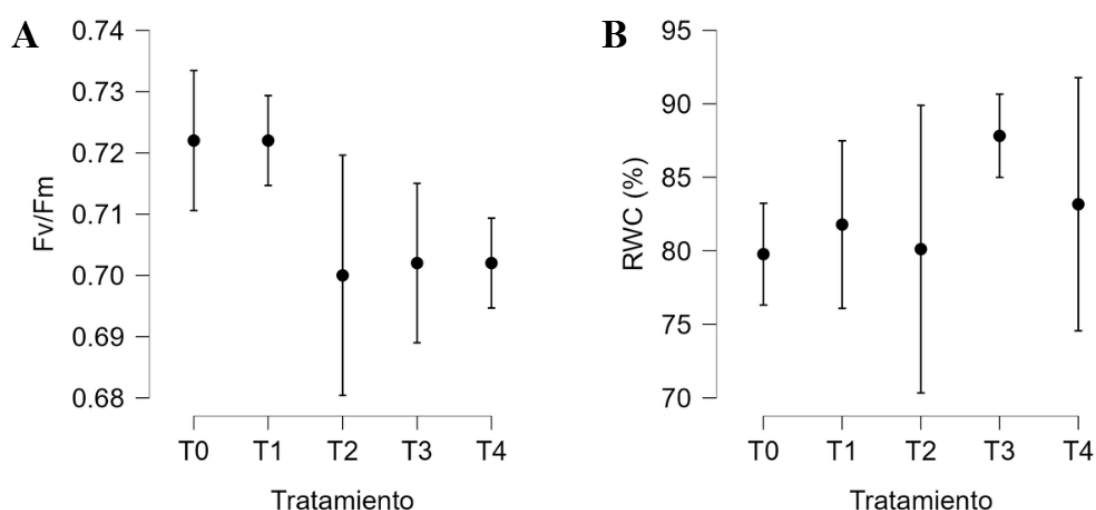


Figura 4. Valores medios y barras de error (intervalos de confianza al 95%) de fluorescencia de clorofila (A) y contenido relativo de agua (B).

6.5. Variables bioquímicas

Los pigmentos fotosintéticos respondieron de forma marcada a la aplicación de los bioestimulantes, el ANOVA mostró un efecto altamente significativo del tratamiento sobre todos los pigmentos: clorofila a (Ca), clorofila b (Cb), clorofila total (C(a+b)), carotenoides totales (C(x+c)), la relación de clorofila (a/b) y la relación entre clorofilas y carotenoides totales [(a+b)/(x+c)] ($p < 0.001$ en todos los casos) (Anexos 13-24). Los valores medios se resumen en la Tabla 6. El tratamiento T4 registró los mayores contenidos de Ca y clorofila total, con valores de 0.299 ± 0.001 y 0.524 ± 0.004 mg g⁻¹ PF, respectivamente. En contraste, los menores valores de clorofila total se observaron en

T2 ($0.364 \pm 9.731 \times 10^{-4}$ mg g⁻¹ PF) y T0 (0.384 ± 0.001 mg g⁻¹ PF). Para carotenoides totales, los mayores contenidos se registraron en T4 ($0.250 \pm 5.320 \times 10^{-4}$ mg g⁻¹ PF) y T3 ($0.243 \pm 1.517 \times 10^{-4}$ mg g⁻¹ PF), en contraste con T0 ($0.179 \pm 5.167 \times 10^{-4}$ mg g⁻¹ PF) y T2 ($0.186 \pm 2.449 \times 10^{-4}$ mg g⁻¹ PF). Estas diferencias se aprecian en la Figura 5 para los pigmentos fotosintéticos analizados.

Las relaciones entre pigmentos también presentaron variaciones significativas entre tratamientos, y sus valores medios se resumen en la Tabla 7. La relación a/b fue mayor en T2 (1.557 ± 0.007) y T4 (1.424 ± 0.003), mientras que el valor más bajo correspondió a T0 (1.007 ± 0.011). En el caso de la relación (a+b)/(x+c), presentó su valor más alto en T1 (2.202 ± 0.017), seguido de T0 (2.142 ± 0.006), mientras que T3 mostró su valor más bajo (1.862 ± 0.015).

Tabla 6. Media $\pm$ desviación estándar de clorofila a (Ca), clorofila b (Cb), clorofila total (C(a+b)) y carotenoides totales (C(x+c)).

Tratamiento	Pigmentos fotosintéticos (mg g ⁻¹ PF)			
	Ca	Cb	C(a+b)	C(x+c)
T0	$0.188 \pm 4.775 \times 10^{-4}$ a	0.186 ± 0.002^b	0.384 ± 0.001^a	$0.179 \pm 5.167 \times 10^{-4a}$
T1	0.241 ± 0.001^b	0.208 ± 0.004^c	0.461 ± 0.005^b	$0.210 \pm 7.463 \times 10^{-4b}$
T2	$0.215 \pm 2.302 \times 10^{-4c}$	$0.138 \pm 7.463 \times 10^{-4a}$	$0.364 \pm 9.731 \times 10^{-4c}$	$0.186 \pm 2.449 \times 10^{-4c}$
T3	0.229 ± 0.002^d	0.213 ± 0.002^d	0.452 ± 0.004^d	$0.243 \pm 1.517 \times 10^{-4d}$
T4	0.299 ± 0.001^e	$0.210 \pm 7.855 \times 10^{-4cd}$	0.524 ± 0.004^e	$0.250 \pm 5.320 \times 10^{-4e}$

Tabla 7. Media $\pm$ desviación estándar de las relaciones a/b y (a+b)/(x+c).

Tratamiento	Relaciones entre pigmentos fotosintéticos	
	a/b	(a+b)/(x+c)
T0	1.007 ± 0.011^a	2.142 ± 0.006^a
T1	1.156 ± 0.017^b	2.202 ± 0.017^b
T2	1.557 ± 0.007^c	1.959 ± 0.007^c
T3	1.075 ± 0.004^d	1.862 ± 0.015^d
T4	1.424 ± 0.003^e	2.094 ± 0.012^e

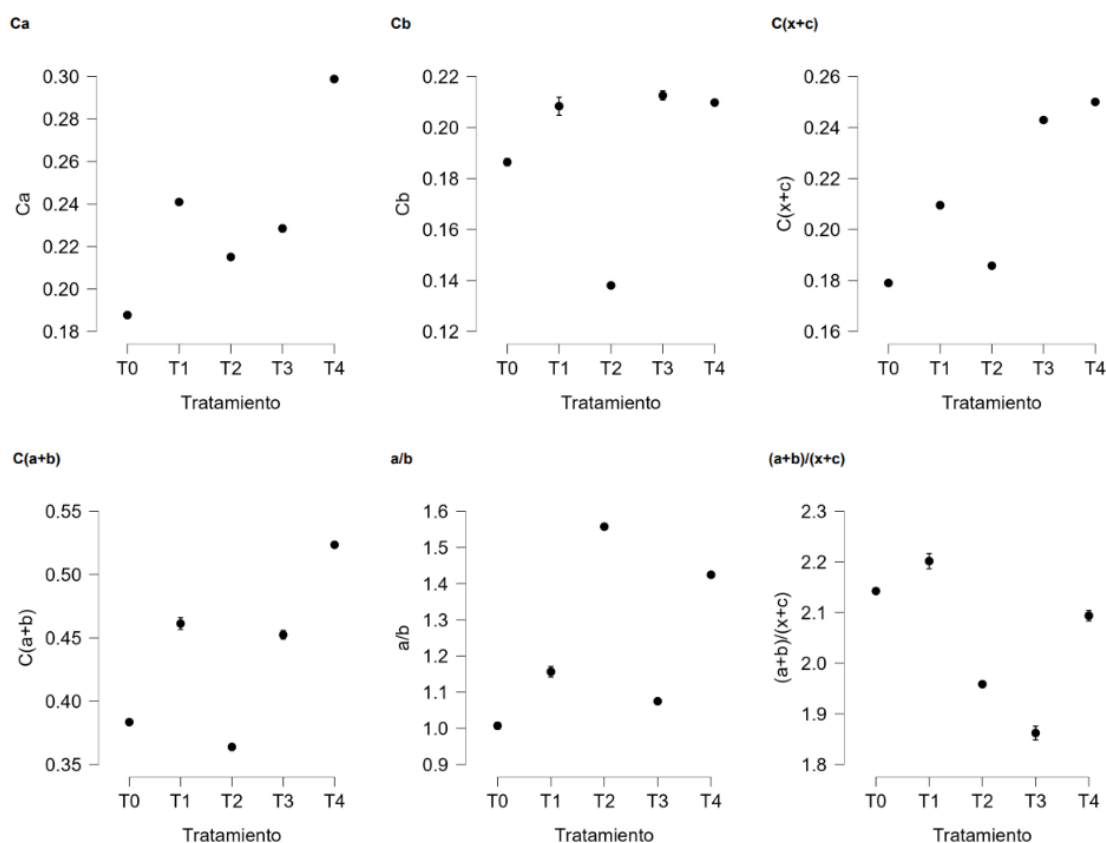


Figura 5. Valores medios y barras de error (intervalos de confianza al 95%) de los pigmentos fotosintéticos. Unidades expresadas en mg g^{-1} PF.

La actividad enzimática antioxidante mostró comportamientos contrastantes entre CAT y SOD. En el caso de catalasa (CAT), se observó un efecto significativo entre los tratamientos ($p < 0.001$) (Anexo 25). En la Tabla 8, T4 presentó la mayor actividad ($4.714 \pm 1.057 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ PF}$), destacando por encima del resto de tratamientos. A continuación se ubicó T2 (2.470 ± 0.739), mientras que el control T0 registró un valor intermedio (1.723 ± 0.347). Por el contrario, T1 (1.071 ± 0.245) y T3 (0.564 ± 0.274) mostraron las menores actividades. La prueba de Tukey confirmó esta tendencia, separando a T4 como el grupo superior, a T2 como un grupo intermedio y a T1 - T3 como el grupo inferior; el control T0 se mantuvo en una posición intermedia compartida (Anexo 26). Esta diferencia se aprecia en la Figura 6A, donde T4 se desplaza hacia los valores más altos y T3 hacia los más bajos.

En cambio, la superóxido dismutasa (SOD), expresada como porcentaje de inhibición de la reducción del NBT, no evidenció diferencias significativas entre tratamientos ($p = 0.132$) (Anexo 27). Aunque se observaron variaciones numéricas entre medias, con valores más altos en T0 ($34.33 \pm 4.54 \%$) y T3 ($32.95 \pm 5.68 \%$) y más bajos en T2 ($22.07 \pm 11.07 \%$), la dispersión interna de las repeticiones no permitió establecer diferencias estadísticas Tabla 8, Figura 6B. Según la prueba post hoc, todos los tratamientos compartieron la misma agrupación, confirmando que la respuesta de SOD fue comparable entre condiciones dentro del nivel de variabilidad observado (Anexo 28).

Tabla 8. Media $\pm$ desviación estándar de la actividad enzimática de CAT y SOD.

Tratamiento	Actividad enzimática	
	CAT ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ PF}$)	SOD (% inhibición)
T0	$1.723 \pm 0.347^{\text{ab}}$	34.23 ± 4.54
T1	$1.071 \pm 0.245^{\text{a}}$	27.66 ± 11.20
T2	$2.470 \pm 0.739^{\text{b}}$	22.07 ± 11.07
T3	$0.564 \pm 0.274^{\text{a}}$	32.95 ± 5.68
T4	$4.714 \pm 1.057^{\text{c}}$	32.32 ± 3.33

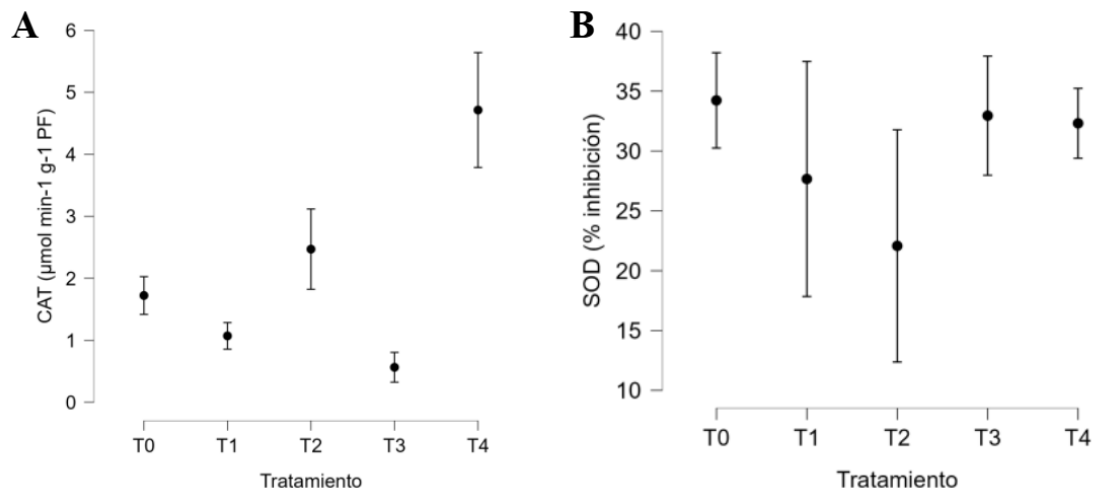


Figura 6. Valores medios y barras de error (intervalos de confianza al 95%) de actividad de catalasa (A) y actividad de superóxido dismutasa (B).

VII. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos muestran que las aplicaciones de bioestimulantes generaron respuestas diferenciales en las plántulas de arándano, aunque no todas las variables presentaron la misma sensibilidad al tratamiento. Dado que las aplicaciones se realizaron después de una etapa de endurecimiento bajo condiciones controladas y de un periodo adicional de estabilización en vivero, las respuestas observadas corresponden a una fase avanzada de la aclimatación *ex vitro* y no a la transición inmediata desde el sistema *in vitro*, funcionalmente más próximo al de un plantín. Bajo esta consideración, la elevada supervivencia general observada en todos los tratamientos indica que el protocolo de establecimiento previo permitió establecer una población vegetal viable, mientras que las diferencias posteriores entre tratamientos reflejan la capacidad de cada formulación para sostener el desempeño de las plántulas en vivero. Este enfoque es coherente con la idea de que la aclimatación en *V. corymbosum* constituye un proceso gradual, fuertemente condicionado por el desarrollo radicular, el control del microambiente y la adaptación progresiva a ambientes menos controlados. Tanto la revisión de Correia et al. [20] como la de Coronel et al. [60] resaltan que el éxito del establecimiento *ex vitro* depende de esa secuencia de adaptación y no de un evento aislado.

En términos de morfología, la ausencia de diferencias significativas en altura final y en la trayectoria de crecimiento contrasta con las diferencias observadas en área foliar y biomasa seca total. Este detalle sugiere que la respuesta al tratamiento no se expresó principalmente en elongación del eje aéreo, sino en la expansión foliar y la acumulación de materia seca. En términos funcionales, ello indica que algunas formulaciones favorecieron una consolidación vegetativa más eficiente, expresada en mayor superficie foliar y mayor producción de biomasa, lo que puede traducirse en una mayor capacidad de captación de luz y en una mejor consolidación del aparato fotosintético, sin que esto resultara en plantas más altas. Bajo esta interpretación, T4 destacó por presentar la mayor área foliar y uno de los mayores valores de biomasa seca total, mientras que T3 también mostró un comportamiento favorable en esta variable. Este comportamiento es consistente con reportes recientes en arándano y otras especies, donde los bioestimulantes mejoraron crecimiento y vigor, pero no necesariamente de manera uniforme en todas las variables morfológicas [46, 61].

Las variables fisiológicas mostraron una respuesta más conservadora frente a los tratamientos evaluados. El contenido relativo de agua no presentó diferencias significativas entre tratamientos, y sus valores se mantuvieron elevados en todos los casos, lo que sugiere que las plántulas conservaron un estado hídrico foliar similar durante el periodo experimental. En el caso de los valores de fluorescencia de clorofila, aunque el ANOVA detectó un efecto global del tratamiento, la prueba de Tukey no permitió identificar diferencias significativas entre pares de tratamientos, lo que indica que la variación observada fue limitada. En conjunto, estos resultados sugieren que, bajo las condiciones del ensayo, el estado hídrico foliar y la eficiencia fotoquímica máxima del PSII se mantuvieron relativamente estables entre tratamientos. Este comportamiento puede estar asociado a las condiciones ambientales registradas durante la evaluación, caracterizadas por temperaturas moderadas y humedad relativa elevada, un escenario menos severo que los modelos de sequía controlada en que el arándano suele mostrar respuestas fisiológicas más marcadas. Bajo déficit hídrico explícito, se ha demostrado que los bioestimulantes de algas pueden generar cambios más notorios en variables fisiológicas y en tolerancia al estrés [29]. En el presente estudio, la menor magnitud de respuesta fisiológica sugiere que el ambiente al que fueron expuestas las plántulas no fue lo suficientemente restrictivo como para producir contrastes amplios entre tratamientos.

La respuesta bioquímica fue más marcada que la fisiológica. En particular, los cambios observados en los pigmentos fotosintéticos indican que los tratamientos sí modificaron componentes del aparato fotosintético durante la fase evaluada. El incremento de clorofila a y clorofila total, particularmente en T4 y, en menor medida, en T1 y T3, así como el mayor contenido de carotenoides en T4 y T3, indica que determinadas formulaciones favorecieron la acumulación o conservación de estos pigmentos. Además, las diferencias significativas en las relaciones entre clorofilas (a/b) y clorofila y carotenoides totales $[(a+b)/(x+c)]$ muestran que el efecto del tratamiento no se limitó a las concentraciones absolutas, sino que también involucró cambios en las proporciones relativas entre pigmentos. Esto es consistente con modificaciones en la composición relativa del aparato fotosintético y en el balance entre la captación de luz y la fotoprotección. En el arándano se ha reportado que diferentes bioestimulantes pueden modificar parámetros de crecimiento, rendimiento y calidad, mientras que revisiones recientes señalan que estos productos también pueden alterar el perfil químico y funcional de los cultivos, aunque la

magnitud de la respuesta depende del producto, la especie vegetal y el contexto ambiental [51, 53, 62, 63]. En ese marco, el patrón observado en T4 sugiere una respuesta bioquímica más consistente que la de los demás tratamientos.

En el sistema antioxidante, la diferencia entre CAT y SOD no fue homogénea entre tratamientos. La actividad de catalasa respondió significativamente al tratamiento, con máximos en T4, mientras que la actividad de superóxido dismutasa no presentó diferencias estadísticas entre tratamientos. Este resultado sugiere que, bajo las condiciones del ensayo, la respuesta antioxidante fue selectiva y que la detoxificación de H_2O_2 fue más sensible al efecto de las formulaciones evaluadas que la etapa previa de dismutación del radical superóxido. En *V. corymbosum* se ha descrito que distintas aplicaciones foliares pueden activar mecanismos antioxidantes frente a estrés hídrico y toxicidad por aluminio [63], y bajo sequía también se ha observado que los bioestimulantes de algas mejoran la tolerancia al estrés y modifican la respuesta antioxidante [29]. Por ello, la ausencia de diferencias en SOD no invalida el efecto observado en CAT; sino que sugiere una respuesta antioxidante selectiva, probablemente asociada a la intensidad moderada del estrés ambiental y a la naturaleza específica de las formulaciones evaluadas.

Considerados en conjunto, los resultados muestran que la respuesta a los tratamientos va a depender de la variable evaluada y de la formulación específica del producto. Aunque todos los tratamientos correspondieron a bioestimulantes de origen algal marino, no compartieron la misma especie de alga ni necesariamente la misma composición final: T1 y T2 se basaron en *Ascophyllum nodosum*, T3 en *Kappaphycus alvarezii* y T4 en *Durvillaea antarctica*. Entre los tratamientos, T4 presentó el patrón más consistente, al asociarse con alta supervivencia, mayor área foliar, uno de los mayores valores de biomasa seca total, mayores contenidos de pigmentos y la mayor actividad de CAT, mientras que los demás tratamientos mostraron respuestas más parciales o selectivas. Esto sugiere que, aún dentro de los bioestimulantes de origen algal marino, la eficacia biológica depende de la formulación específica y del tipo de respuesta evaluada [46].

VIII. CONCLUSIONES

Los tratamientos aplicados a las plántulas de arándano variedad ‘Emerald’ generaron respuestas diferenciales según la variable evaluada:

- En conjunto, el tratamiento T4 (Basfoliar Algae, extracto de *Durvillaea antarctica*) mostró el comportamiento más favorable.
- En supervivencia, aunque todos los tratamientos mostraron porcentajes altos, los tratamientos T1 y T4 presentaron los valores más favorables.
- En morfología, no hubo diferencias en altura, pero sí en área foliar y biomasa seca total, lo que indica una respuesta asociada principalmente a expansión y acumulación de tejido.
- En fisiología, RWC no presentó diferencias significativas y Fv/Fm mostró un efecto global del tratamiento, sin separación entre medias de Tukey.
- En bioquímica, los tratamientos modificaron los pigmentos fotosintéticos y la actividad de CAT, mientras que SOD no presentó diferencias significativas.

IX. LIMITACIONES

El presente estudio se realizó bajo condiciones climáticas específicas para una zona de Lima determinada, una región que no corresponde a una zona productora de arándanos. Además, las condiciones ambientales descritas corresponden a registros generales y no a un monitoreo microclimático directo dentro del vivero, lo que limita una interpretación ambiental de mayor resolución. Por lo que las condiciones edafoclimáticas del ensayo pueden diferir significativamente de aquellas presentes en regiones agroecológicas donde se cultiva este fruto a nivel comercial. Asimismo, esta investigación se centró únicamente en la variedad ‘Emerald’; los hallazgos obtenidos podrían no ser generalizables a otras variedades de arándano con distinta tolerancia al estrés ambiental.

Si bien la aclimatación *ex vitro* depende en gran medida del desarrollo radical, en este estudio no se evaluaron variables específicas de arquitectura o crecimiento radical, por lo que la interpretación del establecimiento se basa principalmente en indicadores integrados de supervivencia, crecimiento, estado hídrico y respuesta bioquímica. Además, la aplicación de los bioestimulantes fue por vía foliar únicamente en tres ocasiones; no se exploraron otras formas de aplicación, lo que podría variar la eficacia en la absorción y respuesta de las plantas. Finalmente, algunas variables fisiológicas y bioquímicas se evaluaron en un único momento del experimento, lo que impide describir con mayor detalle la dinámica temporal de la respuesta de las plántulas. Dado que los tratamientos corresponden a productos comerciales aplicados a las dosis recomendadas por cada fabricante, las diferencias observadas reflejan el efecto integrado de la formulación y la dosis de uso, por lo que no pueden atribuirse exclusivamente a la especie de alga de origen.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ministerio de Agricultura y Riego (MINAGRI). El arándano en el Perú y el mundo. Boletín de Análisis Económicos N° 36 [Internet]. 2016. Disponible en: <https://bibliotecavirtual.midagri.gob.pe/index.php/analisis-economicos/boletines/2016/36-el-arandano-en-el-peru-y-el-mundo/file>
2. Kalt W, Cassidy A, Howard LR, Krikorian R, Stull AJ, Tremblay F, et al. Recent research on the health benefits of blueberries and their anthocyanins. *Adv Nutr*. 2020 Mar;11(2):224–236. doi:10.1093/advances/nmz065.
3. Rashidinejad A. Blueberries. In: Jaiswal VK, editor. *Nutritional Composition and Antioxidant Properties of Fruits and Vegetables*. Amsterdam (NL): Academic Press; 2020. p. 467-482. doi:10.1016/B978-0-12-812780-3.00029-5.
4. Macha Huamán R, Navarro Soto FC, Ramírez Ríos A, Alfaro Paredes EA. International market concentration of fresh blueberries in the period 2001—2020. *Humanit Soc Sci Commun*. 2023; 10:967. doi:10.1057/s41599-023-02455-7
5. Lobos GA, Hancock JF. Breeding blueberries for a changing global environment: a review. *Front Plant Sci*. 2015; 6:782. doi:10.3389/fpls.2015.00782.
6. Smrke T, Veberic R, Hudina M, Zitko V, Ferlan M, Jakopic J. Fruit quality and yield of three highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) cultivars grown in two planting systems under different protected environments. *Horticulturae*. 2021;7(12):591. doi:10.3390/horticulturae7120591.
7. Edger PP, Iorizzo M, Bassil NV, Benevenuto J, Ferrão LFV, Giongo L, et al. There and back again; historical perspective and future directions for *Vaccinium* breeding and research studies. *Hortic Res*. 2022;9:uhac083. doi:10.1093/hr/uhac083.
8. González A, Gloria C. Manual de manejo agronómico del arándano [Internet]. Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA); [s.f.]. Disponible en: <https://biblioteca.inia.cl/server/api/core/bitstreams/f1e390b9-0991-4333-9d01-9d62fc12032a/content>
9. Ministerio de Agricultura y Riego (MINAGRI) – Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA). Presentación de resultados del Proyecto 242-PI [Internet]. Lima: Gobierno del Perú; [s.f.]. Disponible en: https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/1205428/PRESENTACION%203N_RESULTADOS_242_PI.pdf

10. Lyrene PM. Blueberry plant called 'Emerald'. US Patent PP12165 P2. 2001.
11. Lyrene PM. 'Emerald' Southern Highbush Blueberry. HortScience. 2008;43(5):1606–1607. doi:10.21273/hortsci.43.5.1606.
12. Fang Y, Nunez GH, Silva MNd, Phillips DA, Munoz PR. A review for southern highbush blueberry alternative production systems. Agronomy. 2020;10(10):1531. doi:10.3390/agronomy10101531.
13. Montes Ninaquispe JC, Arbulú Ballesteros MA, Cruz Salinas LE, García Juárez HD, Farfán Chilicaus GC, Martel Acosta R, et al. A strategy for the sustainability of Peru's blueberry exports: diversification and competitiveness. Sustainability. 2024;16(15):6606. doi:10.3390/su16156606.
14. Medina RB, Cantuarias-Avilés T, Angolini CF, Silva SR da. Performance of 'Emerald' and 'Jewel' blueberry cultivars under no-chill incidence. Pesquisa Agropecuária Tropical. 2018;48(2):147-152. doi:10.1590/1983-40632018v4852093.
15. Rodriguez-Saona C, Vincent C, Isaacs R. Blueberry IPM: past successes and future challenges. Annu Rev Entomol. 2019; 64:95-114. doi:10.1146/annurev-ento-011118-112147.
16. Córdova Pariahuache J, Palma Custodio AM, Pantaleón Santa-María AL, Heredia Llatas FD. Exportación y diversificación de mercados de los arándanos en el Perú 2012-2022. In: Proceedings of the 22nd LACCEI International Multi-Conference for Engineering, Education and Technology; 2024 Jul 17-19; San José, Costa Rica. San José: LACCEI; 2024. doi:10.18687/LACCEI2024.1.1.494.
17. Figiel-Kroczyńska M, Krupa-Małkiewicz M, Ochmian I. Efficient micropropagation protocol of three cultivars of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.). Not Bot Horti Agrobo. 2022;50(4):12856. doi:10.15835/nbha50412856.
18. Correia S, Matos M, Leal F. Advances in Blueberry (*Vaccinium* spp.) In Vitro Culture: A Review. Horticulturae. 2024;10(6):533. doi:10.3390/horticulturae10060533
19. Cappai F, Garcia A, Cullen R, Davis M, Munoz PR. Advancements in low-chill blueberry *Vaccinium corymbosum* L. tissue culture practices. Plants. 2020;9(11):1624. doi:10.3390/plants9111624.

20. Georgieva M, Kondakova V. In vitro propagation of *Vaccinium corymbosum* L. Bulg J Agric Sci. 2021;27(2):323-327. Disponible en: <https://agrojournal.org/27/02-11.pdf>
21. Le KC, Johnson S, Aidun CK, Egertsdotter U. In vitro propagation of the blueberry 'Blue Suede™' (*Vaccinium* hybrid) in semi-solid medium and temporary immersion bioreactors. Plants. 2023;12(15):2752. doi:10.3390/plants12152752.
22. Akimova S, Radzhabov A, Esaulko A, Samoshenkov E, Nechiporenko I, Kazakov P, et al. Improvement of ex vitro growing completion of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) in containers. Forests. 2022;13(10):1550. doi:10.3390/f13101550.
23. Tejada-Alvarado JJ, Meléndez-Mori JB, Vilca-Valqui NC, Huaman-Huaman E, Lapiz-Culqui YK, Neri JC, et al. Optimizing factors influencing micropropagation of 'Bluecrop' and 'Biloxi' blueberries and evaluation of their morpho-physiological characteristics during ex vitro acclimatization. J Berry Res. 2022; 12:347-364. doi:10.3233/JBR-211565.
24. Wang Y, Zhang X, Jiang Z, Yang X, Liu X, Ou X, et al. Establishment and optimization of micropropagation system for southern highbush blueberry. Horticulturae. 2023;9(8):893. doi:10.3390/horticulturae9080893.
25. Zalt N, Yasmin S, Hamakhan A, Polat Ş, Yu H, Ge C, et al. Effect of auxins and activated carbon on in vitro rooting of two blueberry cultivars (*Vaccinium corymbosum*). J Hortic Res. 2024;32(2):75-80. doi:10.2478/johr-2024-0016.
26. Undurraga P, Vargas S. Manual de arándano [Internet]. Santiago (Chile): Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA); 2013. Disponible en: <https://bibliotecadigital.ciren.cl/items/679e42c2-28f7-4bf1-9a61-0a78fa427563>
27. Macancela Ludizaca JP, Quituizaca Morocho LP. Evaluación de sustratos para la producción de arándano (*Vaccinium corymbosum* L) cvs. Biloxi y Emerald bajo condiciones de invernadero en la Granja el Romeral, Guachapala-Azuay [Internet]. Cuenca: Universidad de Cuenca; 2023. Trabajo de titulación previo a la obtención del título de Ingeniera Agrónoma. Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/41551>
28. Bhupenchandra I, Chongtham SK, Devi EL, Ramesh R, Choudhary AK, Salam MD, et al. Role of biostimulants in mitigating the effects of climate change on

- crop performance. *Front Plant Sci.* 2022; 13:967665. doi:10.3389/fpls.2022.967665.
29. Petropoulos SA, Fernandes Â, Plexida S, Chrysargyris A, Tzortzakis N, Barreira JCM, et al. Biostimulants Application Alleviates Water Stress Effects on Yield and Chemical Composition of Greenhouse Green Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Agronomy*. 2020;10(2):181. doi:10.3390/agronomy10020181.
 30. Grzelak M, Pacholczak A, Nowakowska K. Challenges and insights in the acclimatization step of micropropagated woody plants. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 2024; 159:72. doi:10.1007/s11240-024-02923-1.
 31. Tang X, An B, Cao D, Xu R, Wang S, Zhang Z, et al. Improving photosynthetic capacity, alleviating photosynthetic inhibition and oxidative stress under low temperature stress with exogenous hydrogen sulfide in blueberry seedlings. *Front Plant Sci.* 2020; 11:108. doi:10.3389/fpls.2020.00108.
 32. Lenart A, Wrona D, Krupa T. Biostimulators with marine algae extracts and their role in increasing tolerance to drought stress in highbush blueberry cultivation. *PLoS One*. 2024;19(9):e0306831. doi:10.1371/journal.pone.0306831.
 33. Clapa D, Fira A, Joshee N. An efficient ex vitro rooting and acclimatization method for horticultural plants using float hydroculture. *HortScience*. 2013;48(9):1159-1167. doi:10.21273/HORTSCI.48.9.1159.
 34. Jiménez-Arias D, García-Machado FJ, Morales-Sierra S, García-García AL, Herrera AJ, Valdés F, et al. A Beginner's Guide to Osmoprotection by Biostimulants. *Plants*. 2021;10(2):363. doi:10.3390/plants10020363.
 35. Hasanuzzaman M, Bhuyan MHMB, Zulfiqar F, Raza A, Mohsin SM, Mahmud JA, Fujita M, Fotopoulos V. Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: revisiting the crucial role of a universal defense regulator. *Antioxidants*. 2020;9(8):681. doi:10.3390/antiox9080681.
 36. Acosta-Motos JR, Noguera-Vera L, Barba-Espín G, Piqueras A, Hernández JA. Antioxidant metabolism and chlorophyll fluorescence during the acclimatisation to ex vitro conditions of micropropagated *Stevia rebaudiana* Bertoni plants. *Antioxidants*. 2019;8(12):615. doi:10.3390/antiox8120615.
 37. Franzoni G, Cocetta G, Prinsi B, Ferrante A, Espen L. Biostimulants on crops: their impact under abiotic stress conditions. *Horticulturae*. 2022;8(3):189. doi:10.3390/horticulturae8030189.

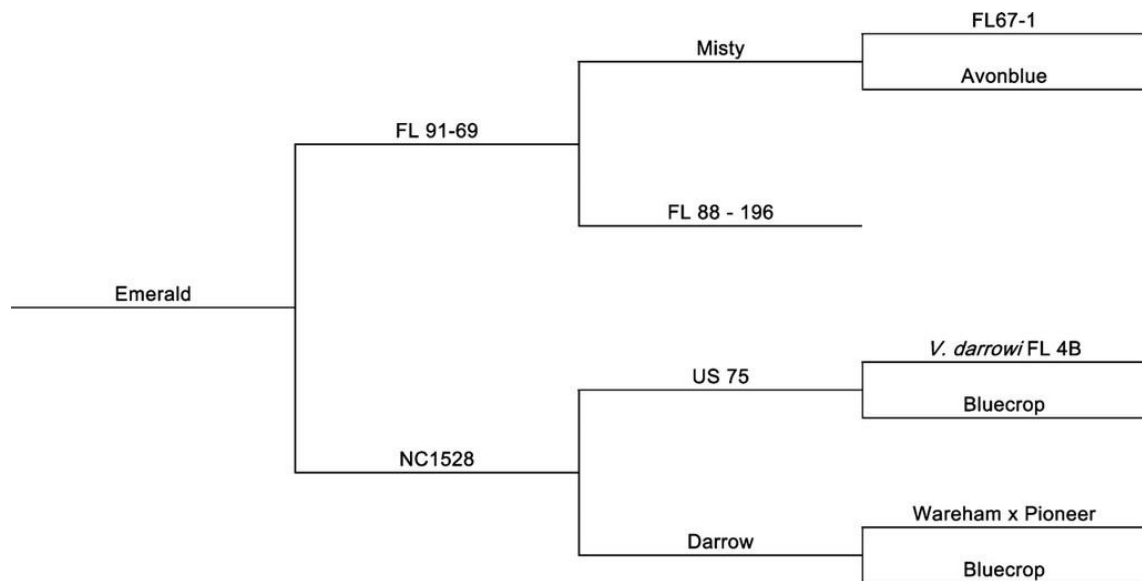
38. Drobek M, Frąc M, Cybulska J. Plant Biostimulants: Importance of the Quality and Yield of Horticultural Crops — A Review. *Agronomy*. 2020;10(3):433. doi:10.3390/agronomy10030433.
39. Lenart A, Wrona D, Klimek K, Kaplan M, Krupa T. Assessment of the impact of innovative fertilization methods compared to traditional fertilization in the cultivation of highbush blueberry. *PLoS One*. 2022;17(7):e0271383. doi:10.1371/journal.pone.0271383.
40. Mannino G, Campobenedetto C, Vigliante I, Contartese V, Gentile C, Berteà CM, et al. The application of a plant biostimulant based on seaweed and yeast extract improved tomato fruit development and quality. *Biomolecules*. 2020;10(12):1662. doi:10.3390/biom10121662
41. Hamid B, Zaman M, Farooq S, Fatima S, Sayyed RZ, Baba ZA, et al. Bacterial Plant Biostimulants: A Sustainable Way towards Improving Growth, Productivity, and Health of Crops. *Sustainability*. 2021;13(5):2856. doi:10.3390/su13052856.
42. Deolu-Ajayi AO, van der Meer IM, van der Werf A, Karlova R. The power of seaweeds as plant biostimulants to boost crop production under abiotic stress. *Plant Cell Environ*. 2022;45(9):2537-2553. doi:10.1111/pce.14391.
43. Qiu Y, Amirkhani M, Mayton H, Chen Z, Taylor AG. Biostimulant seed coating treatments to improve cover crop germination and seedling growth. *Agronomy*. 2020;10(2):154. doi:10.3390/agronomy10020154.
44. Li J, Van Gerrewey T, Geelen D. A meta-analysis of biostimulant yield effectiveness in field trials. *Front Plant Sci*. 2022; 13:836702. doi:10.3389/fpls.2022.836702.
45. Ali O, Ramsubhag A, Jayaraman J. Biostimulant Properties of Seaweed Extracts in Plants: Implications towards Sustainable Crop Production. *Plants*. 2021;10(3):531. doi:10.3390/plants10030531.
46. Mughunth RJ, Velmurugan S, Mohanalakshmi M, Vanitha K, et al. A review of seaweed extract's potential as a biostimulant to enhance growth and mitigate stress in horticulture crops. *Scientia Horticulturae*. 2024; 334:113312. doi:10.1016/j.scienta.2024.113312.

47. El Boukhari MEM, Barakate M, Bouhia Y, Lyamlouli K. Trends in seaweed extract based biostimulants: manufacturing process and beneficial effect on soil-plant systems. *Plants*. 2020;9(3):359. doi:10.3390/plants9030359.
48. Sujeeth N, Petrov V, Guinan KJ, Rasul F, O’Sullivan JT, Gechev TS. Current Insights into the Molecular Mode of Action of Seaweed-Based Biostimulants and the Sustainability of Seaweeds as Raw Material Resources. *Int J Mol Sci*. 2022;23(14):7654. doi:10.3390/ijms23147654.
49. Staropoli A, Di Mola I, Ottaiano L, Cozzolino E, Pironti A, Lombardi N, et al. Biodegradable mulch films and bioformulations based on *Trichoderma* sp. and seaweed extract differentially affect the metabolome of industrial tomato plants. *J Fungi*. 2024;10(2):97. doi:10.3390/jof10020097.
50. Mamede M, Cotas J, Pereira L, Bahcevandziev K. Seaweed polysaccharides as potential biostimulants in turnip greens production. *Agronomy*. 2024;10(2):130. doi:10.3390/horticulturae10020130.
51. Lopes T, Silva AP, Ribeiro C, Carvalho R, Aires A, Vicente AA, et al. *Ecklonia maxima* and Glycine–Betaine-Based Biostimulants Improve Blueberry Yield and Quality. *Horticulturae*. 2024; 10(9):920. doi:10.3390/horticulturae10090920.
52. Espinosa-Antón AA, Hernández-Herrera RM, González-González M. Extractos bioactivos de algas marinas como bioestimulantes del crecimiento y la protección de las plantas. *Biotecnología Vegetal*. 2020;20(4):257–282. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/353646834_Extractos_bioactivos_de_algas_marinas_como_bioestimulantes_del_crecimiento_y_la_proteccion_de_las_plantas
53. Boutahiri S, Benrkia R, Tembeni B, Idowu OE, Olatunji OJ. Effect of biostimulants on the chemical profile of food crops under normal and abiotic stress conditions. *Curr Plant Biol*. 2024; 40:100410. doi:10.1016/j.cpb.2024.100410.
54. Maxwell K, Johnson GN. Chlorophyll fluorescence — a practical guide. *J Exp Bot*. 2000;51(345):659-668. doi:10.1093/jxb/51.345.659.
55. Lugojan C. Evaluation of relative water content in winter wheat. *J Horticult Forestry Biotechnol*. 2011;15(2):173-177.

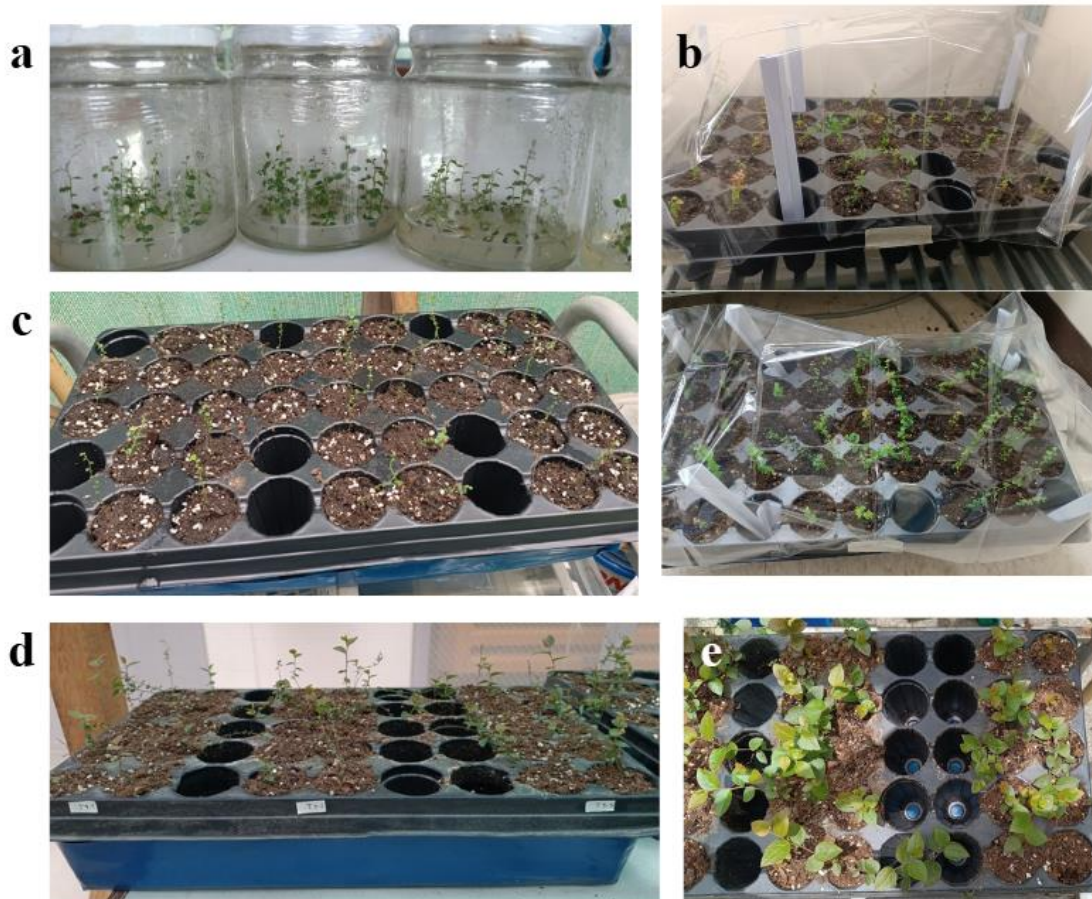
56. Lichtenthaler HK, Wellburn AR. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochem Soc Trans.* 1983;11(5):591-592. doi:10.1042/bst0110591.
57. Barzotto GR, Cardoso CP, Jorge LG, Campos FG, Boaro CSF. Foliar H₂O₂ application improve the photochemical and osmotic adjustment of tomato plants subjected to drought. *Agriculture.* 2024;14(9):1572. doi:10.3390/agriculture14091572.
58. Ramzan M, Ayub F, Shah AA, Naz G, Shah AN, Malik A, Sardar R, Telesiński A, Kalaji HM, Dessoky ES, Elgawad HA. Synergistic effect of zinc oxide nanoparticles and Moringa oleifera leaf extract alleviates cadmium toxicity in *Linum usitatissimum*: antioxidants and physiochemical studies. *Front Plant Sci.* 2022; 13:900347. doi:10.3389/fpls.2022.900347.
59. Zar JH. *Biostatistical analysis*. 5th ed. Upper Saddle River (NJ): Pearson/Prentice Hall; 2009.
60. Coronel Montesdeoca NT, Jácome Sarchi GA, Martínez R, Hernández F. *In vitro* techniques to domesticate mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) and other *Vaccinium* species: a review. *Plants.* 2025;14(11):1596. doi:10.3390/plants14111596.
61. Espinoza-Galaviz JY, González-Fuentes JA, Valdez-Aguilar LA, Benavides-Mendoza A, González-Morales S, Tafolla-Arellano JC, Castillo-Chacón CE. Preharvest application of biostimulants to improve growth, quality, and yield of blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.). *Not Bot Horti Agrobo.* 2025;53(4):14614. doi:10.15835/nbha53414614.
62. Lopes T, Silva AP, Aires A, Carvalho R, Ferreira M, Vicente AA, Pinto E, Cosme F. Effect of foliar biostimulant application on bioactive compounds and antioxidant capacity in blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.). *Plants (Basel).* 2025;15(1):92. doi:10.3390/plants15010092.
63. Cáceres C, Cazor-Curilef C, Delgado-Santibañez P, Machado M, Delgado M, Ribera-Fonseca A, Inostroza-Blancheteau C, Bravo LA, González-Villagra J, Nunes-Nesi A, Reyes-Díaz M. Foliar methyl jasmonate application activates antioxidant mechanisms to counteract water deficits and aluminum stress in *Vaccinium corymbosum* L. *Horticulturae.* 2024;10(11):1172. doi:10.3390/horticulturae10111172.

ANEXOS

Anexo 1: Pedigrí de ‘Emerald’. Tomado de Lyrene [9].



Anexo 2: Procesamiento de las plántulas de arándano ‘Emerald’. **a:** Plántulas *in vitro* en frascos. **b:** Endurecimiento en cuarto de cultivo con plástico como recubrimiento para mantener una humedad alta. **c:** Estabilización de 14 días en vivero para asegurar población experimental. **d:** Plántulas después de la segunda aplicación de tratamientos. **e:** Plántulas después de la tercera aplicación de tratamientos.



Anexo 3: ANOVA de una vía para la tasa de supervivencia según tratamiento, utilizando datos transformados mediante la función arcoseno de la raíz cuadrada ($\arcsin\sqrt{p}$).

Cases	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p	η^2
Tratamiento	0.571	4	0.143	6.872	.001	0.579
Residuals	0.415	20	0.021			

Note. Type III Sum of Squares

Anexo 4: Comparaciones múltiples de medias mediante la prueba de Tukey para la tasa de supervivencia *ex vitro* según tratamiento.

		Mean Difference	SE	df	t	Cohen's d	P _{Tukey}
T0	T1	-0.314	0.091	20	-3.447	-2.180	.019*
	T2	0.023	0.091	20	0.255	0.161	.999
	T3	-0.250	0.091	20	-2.741	-1.734	.083
	T4	-0.314	0.091	20	-3.447	-2.180	.019*
T1	T2	0.337	0.091	20	3.702	2.341	.011*
	T3	0.064	0.091	20	0.706	0.447	.953
	T4	-6.939×10 ⁻¹⁷	0.091	20	-7.614×10 ⁻¹⁶	0.000	1.000
T2	T3	-0.273	0.091	20	-2.996	-1.895	.050*
	T4	-0.337	0.091	20	-3.702	-2.341	.011*
T3	T4	-0.064	0.091	20	-0.706	-0.447	.953

* p < .05

Note. P-value adjusted for comparing a family of 5 estimates.

Anexo 5: ANOVA de una vía para la altura final según tratamiento.

Cases	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p
Tratamiento	3.774	4	0.943	0.661	.626
Residuals	28.528	20	1.426		

Note. Type III Sum of Squares

Anexo 6: ANOVA de medidas repetidas para crecimiento en altura en el tiempo para los factores tiempo y la interacción tratamiento x tiempo.

Cases	Sphericity Correction	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p
Tiempo	None	263.412	3.000	87.804	399.871	< .001
	Greenhouse-Geisser	263.412	2.207	119.350	399.871	< .001
	Huynh-Feldt	263.412	2.492	105.684	399.871	< .001
Tiempo * Tratamiento	None	3.121	12.000	0.260	1.185	.315
	Greenhouse-Geisser	3.121	8.828	0.354	1.185	.329
	Huynh-Feldt	3.121	9.970	0.313	1.185	.324
Residuals	None	13.175	60.000	0.220		
	Greenhouse-Geisser	13.175	44.141	0.298		
	Huynh-Feldt	13.175	49.849	0.264		

Note. Type III Sum of Squares

Anexo 7: ANOVA de una vía para crecimiento en el tiempo para el factor tratamiento.

Cases	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p
Tratamiento	11.12	4	2.779	0.436	.781
Residuals	127.41	20	6.371		

Note. Type III Sum of Squares

Anexo 8: ANOVA de una vía para el área foliar según tratamiento.

Cases	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p	η^2
Tratamiento	4.253	4	1.063	3.876	.017	0.437
Residuals	5.486	20	0.274			

Note. Type III Sum of Squares

Anexo 9: ANOVA de una vía para la biomasa seca total según tratamiento.

Cases	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p
Tratamiento	159.0	4	39.76	5.216	.005
Residuals	152.5	20	7.623		

Note. Type III Sum of Squares

Anexo 10: ANOVA de una vía para Fv/Fm según tratamiento.

Cases	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p
Tratamiento	0.003	4	6.440×10^{-4}	3.126	.038
Residuals	0.004	20	2.060×10^{-4}		

Note. Type III Sum of Squares

Anexo 11: Prueba de Tukey para Fv/Fm.

		Mean Difference	SE	df	t	P _{Tukey}
T0	T1	6.418×10 ⁻¹⁷	0.009	20	7.071×10 ⁻¹⁵	1.000
	T2	0.022	0.009	20	2.424	.150
	T3	0.020	0.009	20	2.203	.219
	T4	0.020	0.009	20	2.203	.219
T1	T2	0.022	0.009	20	2.424	.150
	T3	0.020	0.009	20	2.203	.219
	T4	0.020	0.009	20	2.203	.219
T2	T3	-0.002	0.009	20	-0.220	.999
	T4	-0.002	0.009	20	-0.220	.999
T3	T4	1.908×10 ⁻¹⁷	0.009	20	2.102×10 ⁻¹⁵	1.000

Note. P-value adjusted for comparing a family of 5 estimates.

Anexo 12: ANOVA de una vía para RWC según tratamiento.

Cases	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p
Tratamiento	211.8	4	52.95	0.916	.474
Residuals	1156.2	20	57.81		

Note. Type III Sum of Squares

Anexo 13: ANOVA de una vía para clorofila a (Ca).

Cases	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p
Tratamiento	0.034	4	0.008	6365	< .001
Residuals	2.662×10 ⁻⁵	20	1.331×10 ⁻⁶		

Note. Type III Sum of Squares

Anexo 14: Prueba de Tukey para clorofila a (Ca).

		Mean Difference	SE	df	t	P _{Tukey}
T0	T1	-0.053	7.296×10^{-4}	20	-72.92	< .001***
	T2	-0.027	7.296×10^{-4}	20	-37.45	< .001***
	T3	-0.041	7.296×10^{-4}	20	-55.87	< .001***
	T4	-0.111	7.296×10^{-4}	20	-152.2	< .001***
T1	T2	0.026	7.296×10^{-4}	20	35.47	< .001***
	T3	0.012	7.296×10^{-4}	20	17.05	< .001***
	T4	-0.058	7.296×10^{-4}	20	-79.30	< .001***
T2	T3	-0.013	7.296×10^{-4}	20	-18.42	< .001***
	T4	-0.084	7.296×10^{-4}	20	-114.8	< .001***
T3	T4	-0.070	7.296×10^{-4}	20	-96.35	< .001***

*** p < .001

Note. P-value adjusted for comparing a family of 5 estimates.

Anexo 15: ANOVA de una vía para clorofila b (Cb).

Cases	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p
Tratamiento	0.020	4	0.005	1016	< .001
Residuals	9.695×10^{-5}	20	4.847×10^{-6}		

Note. Type III Sum of Squares

Anexo 16: Prueba de Tukey para clorofila b (Cb).

		Mean Difference	SE	df	t	P _{Tukey}
T0	T1	-0.022	0.001	20	-15.76	< .001***
	T2	0.048	0.001	20	34.72	< .001***
	T3	-0.026	0.001	20	-18.77	< .001***
	T4	-0.023	0.001	20	-16.78	< .001***
T1	T2	0.070	0.001	20	50.47	< .001***
	T3	-0.004	0.001	20	-3.016	.048*
	T4	-0.001	0.001	20	-1.020	.843
T2	T3	-0.074	0.001	20	-53.49	< .001***
	T4	-0.072	0.001	20	-51.49	< .001***
T3	T4	0.003	0.001	20	1.996	.303

* p < .05, *** p < .001

Note. P-value adjusted for comparing a family of 5 estimates.

Anexo 17: ANOVA de una vía para clorofila total C(a+b).

Cases	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p
Tratamiento	0.083	4	0.021	2089	< .001
Residuals	1.978×10^{-4}	20	9.888×10^{-6}		

Note. Type III Sum of Squares

Anexo 18: Prueba de Tukey para clorofila total C(a+b).

		Mean Difference	SE	df	t	PTukey
T0	T1	-0.078	0.002	20	-39.11	< .001***
	T2	0.020	0.002	20	9.876	< .001***
	T3	-0.069	0.002	20	-34.65	< .001***
	T4	-0.140	0.002	20	-70.40	< .001***
T1	T2	0.097	0.002	20	48.99	< .001***
	T3	0.009	0.002	20	4.455	.002**
	T4	-0.062	0.002	20	-31.29	< .001***
T2	T3	-0.089	0.002	20	-44.53	< .001***
	T4	-0.160	0.002	20	-80.27	< .001***
T3	T4	-0.071	0.002	20	-35.74	< .001***

** p < .01, *** p < .001

Note. P-value adjusted for comparing a family of 5 estimates.

Anexo 19: ANOVA de una vía para carotenoides totales C(x+c).

Cases	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p
Tratamiento	0.021	4	0.005	21920	< .001
Residuals	4.760×10^{-6}	20	2.380×10^{-7}		

Note. Type III Sum of Squares

Anexo 20: Prueba de Tukey para carotenoides totales C(x+c).

		Mean Difference	SE	df	t	PTukey
T0	T1	-0.031	3.085×10^{-4}	20	-98.85	< .001***
	T2	-0.007	3.085×10^{-4}	20	-21.97	< .001***
	T3	-0.064	3.085×10^{-4}	20	-207.2	< .001***
	T4	-0.071	3.085×10^{-4}	20	-230.2	< .001***
T1	T2	0.024	3.085×10^{-4}	20	76.88	< .001***
	T3	-0.033	3.085×10^{-4}	20	-108.3	< .001***
	T4	-0.041	3.085×10^{-4}	20	-131.3	< .001***
T2	T3	-0.057	3.085×10^{-4}	20	-185.2	< .001***
	T4	-0.064	3.085×10^{-4}	20	-208.2	< .001***
T3	T4	-0.007	3.085×10^{-4}	20	-23.01	< .001***

*** p < .001

Note. P-value adjusted for comparing a family of 5 estimates.

Anexo 21: ANOVA de una vía para la relación a/b de pigmentos fotosintéticos.

Cases	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p
Tratamiento	1.116	4	0.279	2842	< .001
Residuals	0.002	20	9.816×10^{-5}		

Note. Type III Sum of Squares

Anexo 22: Prueba de Tukey para la relación a/b de pigmentos fotosintéticos.

		Mean Difference	SE	df	t	PTukey
T0	T1	-0.149	0.006	20	-23.83	< .001***
	T2	-0.550	0.006	20	-87.82	< .001***
	T3	-0.068	0.006	20	-10.81	< .001***
	T4	-0.417	0.006	20	-66.59	< .001***
T1	T2	-0.401	0.006	20	-63.99	< .001***
	T3	0.082	0.006	20	13.02	< .001***
	T4	-0.268	0.006	20	-42.76	< .001***
T2	T3	0.483	0.006	20	77.01	< .001***
	T4	0.133	0.006	20	21.23	< .001***
T3	T4	-0.350	0.006	20	-55.78	< .001***

*** p < .001

Note. P-value adjusted for comparing a family of 5 estimates.

Anexo 23: ANOVA de una vía para la relación $(a+b)/(x+c)$ de pigmentos fotosintéticos.

Cases	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p
Tratamiento	0.385	4	0.096	633.4	< .001
Residuals	0.003	20	1.520×10^{-4}		

Note. Type III Sum of Squares

Anexo 24: Prueba de Tukey para la relación $(a+b)/(x+c)$ de pigmentos fotosintéticos.

		Mean Difference	SE	df	t	PTukey
T0	T1	-0.059	0.008	20	-7.574	< .001***
	T2	0.184	0.008	20	23.58	< .001***
	T3	0.280	0.008	20	35.94	< .001***
	T4	0.049	0.008	20	6.235	< .001***
T1	T2	0.243	0.008	20	31.15	< .001***
	T3	0.339	0.008	20	43.51	< .001***
	T4	0.108	0.008	20	13.81	< .001***
T2	T3	0.096	0.008	20	12.36	< .001***
	T4	-0.135	0.008	20	-17.34	< .001***
T3	T4	-0.232	0.008	20	-29.70	< .001***

*** p < .001

Note. P-value adjusted for comparing a family of 5 estimates.

Anexo 25: ANOVA de una vía para actividad enzimática de catalasa (CAT).

Cases	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p
Tratamiento	52.637	4	13.159	34.30	< .001
Residuals	7.672	20	0.384		

Note. Type III Sum of Squares

Anexo 26: Prueba de Tukey para actividad enzimática de catalasa (CAT).

		Mean Difference	SE	df	t	P _{Tukey}
T0	T1	0.651	0.392	20	1.663	.477
	T2	-0.747	0.392	20	-1.908	.345
	T3	1.158	0.392	20	2.957	.054
	T4	-2.991	0.392	20	-7.636	< .001***
T1	T2	-1.399	0.392	20	-3.570	.015*
	T3	0.507	0.392	20	1.294	.698
	T4	-3.643	0.392	20	-9.299	< .001***
T2	T3	1.905	0.392	20	4.864	< .001***
	T4	-2.244	0.392	20	-5.729	< .001***
T3	T4	-4.149	0.392	20	-10.593	< .001***

* p < .05, *** p < .001

Note. P-value adjusted for comparing a family of 5 estimates.

Anexo 27: ANOVA de una vía para actividad enzimática de superóxido dismutasa (SOD).

Cases	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p
Tratamiento	501.0	4	125.25	2.007	.132
Residuals	1248.1	20	62.40		

Note. Type III Sum of Squares

Anexo 28: Prueba de Tukey para actividad enzimática de superóxido dismutasa (SOD).

		Mean Difference	SE	df	t	P _{Tukey}
T0	T1	6.568	4.996	20	1.315	.686
	T2	12.160	4.996	20	2.434	.147
	T3	1.278	4.996	20	0.256	.999
	T4	1.914	4.996	20	0.383	.995
T1	T2	5.592	4.996	20	1.119	.795
	T3	-5.290	4.996	20	-1.059	.825
	T4	-4.654	4.996	20	-0.932	.881
T2	T3	-10.882	4.996	20	-2.178	.228
	T4	-10.246	4.996	20	-2.051	.279
T3	T4	0.636	4.996	20	0.127	1.000

Note. P-value adjusted for comparing a family of 5 estimates.