

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA “JUAN MISAEL SARACHO”
FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS Y FORESTALES
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA



**INTRODUCCIÓN IN VITRO DE LA MANDARINA CLEOPATRA (*Citrus
reshni Hort. ex. Tanaka*) A PARTIR DE EMBRIONES NUCELARES Y
SEGMENTOS NODALES PARA LA PRODUCCIÓN DE PORTA INJERTOS.**

Por:

BANEZA MALDONADO GAITE

Tesis presentada a consideración de la “UNIVERSIDAD AUTÓNOMO JUAN MISAEL SARACHO”, como requisito para optar al grado académico de Licenciatura en Ingeniería Agronómica.

Gestión - 2018

TARIJA – BOLIVIA

“V”B”

.....
M. Sc. Ing. Víctor Enrique Zenteno López

PROFESOR GUIA

M. Sc. Ing. Freddy Castro Salinas
**DECANO a.i. FACULTAD DE CIENCIAS
AGRICOLAS Y FORESTALES**

M.Sc. Ing. Luis Arandia Mendivil
**VICEDECANO a.i. FACULTAD DE
CIENCIAS AGRICOLAS Y FORESTALES**

**APROBADA POR:
TRIBUNALES**

.....
M. Sc. Ing. Miriam Torrico Aparicio
TRIBUNAL

.....
M. Sc. Ing. Yerko Sfarich Ruiz
TRIBUNAL

.....
M. Sc. Ing. Edwin Dellmis Florez Segovia
TRIBUNAL

El tribunal calificador del presente trabajo no se solidariza con la forma, términos, modos y expresiones vertidas en el mismo, siendo esta responsabilidad del autor.

DEDICATORIA

Esta tesis se la dedico a Dios quien supo guiarme por el buen camino darme fuerzas, salud y sabiduría para seguir adelante y no desfallecer en el intento.

A mis padres José Luis Maldonado Gareca y Adela Gaité Aguirre, a mis hermanos Nataly Maldonado Gaité y Pablo Luis Maldonado Gaité que gracias a su apoyo, comprensión, amor, ayuda en los momentos difíciles y coraje para conseguir mis objetivos siendo ellos el pilar fundamental en mi vida.

AGRADECIMIENTOS

Dios, tu amor y bondad no tienen fin, me permites sonreír ante todos mis logros que son el resultado de tu ayuda, sabiduría para entender las adversidades de la vida, entendimiento y paciencia a lo largo de mi formación y sobre todo humildad.

Agradezco a mis padres por el infinito apoyo por hacer de mí una persona con valores.

A mis docentes por ser parte de mi formación académica en especial al Ing. Victor Enrique Zenteno Lopez, al Ing. Jaime Pantoja Cunioli, al Ing Jorge Cardozo Tejerina, al Ing Fidel Ibarra Martinez, al Ing Henry Esnor Valdez H, a la Ing Lola Zenteno Reyes, al Ing Kaleb Nuñez Cespedes y al Ing. Vladimir Ortiz Mendez.

A mis amigos y compañeros por estar ahí en todo momento.

ÍNDICE

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

PÁG.

1.1 ANTECEDENTES.....	1
1.2 JUSTIFICACIÓN.....	2
1.3 PROBLEMA.....	3
1.4 HIPÓTESIS.....	3
1.5 OBJETIVOS.....	3
1.5.1 Objetivo General.....	3
1.5.2 Objetivos Especificos.....	4

CAPÍTULO II

MARCO TEORICO

2.1 HISTORIA.....	5
2.1.1 Importancia económica y distribución geográfica.....	5
2.1.2 Importancia de la utilización y elección de patrones en la citricultura.....	7
2.2 ORIGEN DE LA MANDARINA.....	8
2.3 DESCRIPCIÓN DE LA PLANTA.....	8
2.3.1 Planta.....	8
2.3.2 Descripción botánica.....	9
2.3.3 Etimología del nombre.....	9
2.4 EL FRUTO.....	10
2.5 ADAPTACIÓN CLIMÁTICA DE LA MANDARINA.....	10
2.6 PROPAGACIÓN DE LA MANDARINA.....	11
2.6.1 Mandarina cleopatra (<i>Citrus reshni Hort. ex Tanaka</i>).....	11
2.6.2 Porta injertos.....	12
2.6.2.1 Ventajas de un patrón o porta injerto.....	13
2.7 CULTIVO IN VITRO.....	13

2.7.1	Características generales del cultivo in vitro.....	14
2.7.2	Propagación de tejidos vegetales en cultivo in vitro.....	15
2.8	TÉCNICA DE CULTIVO DE TEJIDOS.....	15
2.9	MEDIOS DE CULTIVO.....	16
2.9.1	Composición del medio de cultivo Murashige Skoog 1962.....	16
2.9.2	Compuestos inorgánicos.....	17
2.9.2.1	Macronutrientes.....	17
2.9.2.2	Micronutrientes.....	18
2.9.3	Compuestos orgánicos	18
2.9.3.1	Aminoácidos.....	18
2.9.3.2	Vitaminas.....	19
2.9.3.3	Azúcares.....	19
2.9.3.4	Carbohidratos.....	20
2.10	REGULADORES DE CRECIMIENTO.....	20
2.10.1	Auxinas.....	20
2.10.2	Citoquininas.....	21
2.10.3	Giberelinas.....	22
2.11	MATERIAL DE SOPORTE.....	23
2.11.1	Medios sólidos.....	23
2.11.2	Medios líquidos	24
2.12	VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LA TÉCNICA DE CULTIVO IN VITRO.....	24
2.12.1	Ventajas.....	24
2.12.2	Desventajas.....	25
2.13	MICROPROPAGACIÓN.....	25
2.13.1	Etapas de la micropropagación.....	26
2.13.1.1	Etapa 0.....	26
2.13.1.2	Etapa 1.....	27
2.13.1.3	Etapa 2.....	27
2.13.1.4	Etapa 3 y 4.....	28
2.14	EMBRIOGÉNESIS SOMÁTICA DE LA MANDARINA CLEOPATRA.....	29

2.15	SEGMENTOS NODALES.....	29
2.16	EMBRIONIA NUCELAR.....	30
2.16.1	Usos de la embrionia nucelar.....	31
2.17	PREPARACIÓN DE LA PLANTA MADRE.....	32
2.17.1	Introducción del material in vitro.....	32
2.17.2	Medio de cultivo.....	32
2.17.3	M&S: Murashige y Skoog.....	33

CAPÍTULO III

MATERIALES Y METODOS

3.1	LOCALIZACIÓN.....	34
3.2	MATERIAL.....	34
3.2.1	Material vegetal.....	34
3.3	MATERIAL DE LABORATORIO.....	35
3.4	METODOLOGÍA.....	37
3.4.1	Diseño experimental.....	37
3.5	VARIABLES	37
3.6	PROCEDIMIENTO.....	38
3.7	VARIABLES	42

CAPÍTULO IV
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1.	SEGMENTOS NODALES – PRIMER ENSAYO.....	44
4.1.1	EVALUACIÓN DE LA REGENERACIÓN DE SEGMENTOS NODALES.....	44
4.1.2.	Análisis de la varianza.....	44
4.1.3	Prueba de medias.....	45
4.1.3.1	Análisis de regeneración de segmentos nodales.....	45
4.2	EVALUACIÓN DE LA CONTAMINACIÓN DE SEGMENTOS NODALES EN LA FASE DE INTRODUCCIÓN.....	46
4.2.3	Análisis de varianza.....	47
4.2.3.1	Análisis de medias de diferencia de segmentos nodales.....	47
4.2.3.2	Análisis de diferencia de medias de los tratamientos de contaminación.....	47
4.2.3.3	Análisis de porcentaje de contaminación en segmentos nodales...	48
4.3	EVALUACIÓN LONGITUDINAL DE BROTES EN SEGMENTOS NODALES	49
4.3.3.1	Análisis de la varianza de longitud de brotes.....	49
4.3.3.2	Análisis de diferencia de medias tratamientos de longitud de brotes.....	50
4.4	EMBRIONES NUCELARES - SEGUNDO ENSAYO.....	51
4.4.1	EVALUACIÓN DE LA REGENERACIÓN DE EMBRIONES NUCELARES.....	51
4.4.2	Análisis de varianza.....	52
4.4.3	Prueba de medias de diferencia significativa de embriones nucelares.....	52
4.4.3.1	Evaluación de contaminación en embriones nucelares.....	53
4.4.3.2	Análisis de varianza.....	54

4.4.3.3	Análisis de medias de diferencias significativas	54
4.5.	Evaluación longitudinal de embriones nucleares.....	55
4.5.1.	Análisis de varianza.....	56
4.5.1.1.	Análisis de diferencias significativas en longitud de brotes.....	56
4.6.		58
	DISCUSIÓN.....	

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1.	CONCLUSIONES.....	60
5.2.		62
	RECOMENDACIONES.....	

BIBLIOGRAFIA

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N°1	Producción mundial de cítricos.....	5
Figura N°2	Exportación mundial de cítricos.....	6
Figura N°3	Porcentaje de regeneración del primer ensayo.....	46
Figura N°4	Porcentaje de contaminación del primer.....	48
Figura N°5	Crecimiento longitudinal de brotes de los segmentos nodales.....	50
Figura N°6	Porcentaje de contaminación de los embriones nucelares.....	53
Figura N°7	Análisis de diferencia de medias de tratamientos de longitud de plántulas.....	57

INDICE DE TABLAS

TABLA N°1	Composición del medio de cultivo Murashige Skoog 1962	16
TABLA N°2	Medios de cultivo para el establecimiento de mandarina Cleopatra (<i>Citrus reshni Hort. ex Tanaka</i>).....	39
TABLA N°3	Análisis de regeneración de segmentos nodales.....	44
TABLA N°4	Cuadro ANOVA.....	44
TABLA N°5	Medias de diferencia significativa de cuadro de regeneración.....	45
TABLA N° 6	Diferencia de medias de tratamientos de regeneración.....	45
TABLA N°7	Análisis de contaminación de segmentos nodales.....	46
TABLA N° 8	Cuadro de ANOVA.....	47
TABLA N°9	Medias de diferencia significativa de cuadro de contaminación.....	47
TABLA N° 10	Diferencia de medias de tratamientos de contaminación....	48
TABLA N° 11	Análisis de longitud de brotes en segmentos nodales.....	49
TABLA N° 12	CUADRO DE ANOVA.....	49
TABLA N°13	Análisis de diferencia de medias tratamientos de longitud de brotes.....	50
TABLA N°14	Análisis de medias de diferencia significativas en longitud de brotes.....	50
TABLA N°15	Análisis de la germinación in vitro de embriones nucelares.....	51
TABLA N°16	CUADRO DE ANOVA.....	52

TABLA N°17	Medias de diferencia significativa de cuadro de regeneración.....	52
TABLA N°18	Diferencia de medias tratamientos en regeneración.....	52
TABLA N°19	Resultados de contaminación en embriones nucleares.....	53
TABLA N°20	CUADRO DE ANOVA.....	54
TABLA N°21	Media de diferencia significativa en contaminación.....	54
TABLA N°22	Análisis de medias de diferencia de medias de tratamientos de contaminación.....	54
TABLA N°23	Análisis de longitud de plántulas.....	55
TABLA N° 24	CUADRO DE ANOVA.....	56
TABLA N°25	Prueba de diferencias significativas.....	56
TABLA N°26	Análisis de diferencia de medias de tratamientos de longitud.....	56

ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO 1 Equipos del laboratorio para realizar el trabajo de Investigación.
- ANEXO 2 Elección de la planta madre (mandarina Cleopatra) para segmentos nodales.
- ANEXO 3 Selección de las semillas de mandarina cleopatra para la extracción de embriones nucelares.
- ANEXO 4 Material seleccionado y listo para la esterilización.
- ANEXO 5 Preparación del medio de cultivo.
- ANEXO 6 Esterilización de los medios de cultivo en la autoclave.
- ANEXO 7 Extracción de los segmentos nodales.
- ANEXO 8 Introducción de la mandarina Cleopatra (segmentos nodales) y (embriones nucelares).
- ANEXO 9 Procedimiento de la introducción de explantes.
- ANEXO 10 Explantes en el medio de cultivo.
- ANEXO 11 Evaluación de muestras contaminadas.
- ANEXO 12 Evaluación de la regeneración de los explantes a los 15 días.
- ANEXO 13 Evaluación longitudinal de los explantes a los 20 y 30 días.

ANEXO 14 Evaluación final en longitud de los explantes a los 60 días.