



**UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS, RECURSOS
NATURALES Y DEL AMBIENTE
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA**

Tema:

Evaluación agromorfológica de plántulas de cinco variedades de naranja mediante multiplicación in vitro de embriones inmaduros con tres dosis de ácido giberélico.

Proyecto de investigación previo a la obtención del título de Ingeniero Agrónomo, otorgado por la Universidad Estatal de Bolívar, a través de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente, Carrera de Ingeniería Agronómica.

Autores:

Luis Alejandro Juela Medina
Pedro Leonidas Mosquera Ceballos

Director del Proyecto:

Ing. César Barberán Barberán. Mg.

Guaranda – Ecuador

2018

Evaluación agromorfológica de plántulas de cinco variedades de naranja mediante multiplicación in vitro de embriones inmaduros con tres dosis de ácido giberélico.

Revisado y aprobado por los miembros del tribunal

.....
ING. CÉSAR BARBERÁN BARBERÁN Mg.
DIRECTOR

.....
ING. KLÉBER ESPINOZA MORA Mg.
BIOMETRISTA

.....
ING. SONIA FIERRO BORJA Mg.
ÁREA DE REDACCIÓN TÉCNICA

CERTIFICACIÓN DE AUTORÍA

Yo, Luis Alejandro Juela Medina con C.I. 0940800428 y Pedro Leónidas Mosquera Ceballos con C.I. 1204232647; declaramos que el trabajo y los resultados presentados en este informe técnico científico, no han sido previamente presentados para ningún grado o calificación profesional; y, que las referencias bibliográficas que se incluyen han sido consultadas y citadas con su respectivo autor (es).

La Universidad Estatal de Bolívar, puede hacer uso de los derechos de publicación correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, su Reglamentación y la Normativa Institucional vigente.

.....
LUIS ALEJANDRO JUELA MEDINA
CI: 094080042-8

.....
PEDRO LEONIDAS MOSQUERA CEBALLOS
CI: 120423264-7

AUTORES

.....
ING. CÉSAR BARBERÁN BARBERÁN Mg.
CI: 1801278035
DIRECTOR

.....
ING. SONIA FIERRO BORJA Mg.
CI: 020108471-2
ÁREA DE REDACCIÓN TÉCNICA

DEDICATORIA

Con todo nuestro corazón dedicamos este proyecto a Dios; quien es nuestra fuente, quien sabe cuáles son nuestros sueños y los va realizando en su tiempo perfecto.

A nuestras madres; que sabemos están felices de vernos obteniendo un logro más.

A nuestras familias, amigos, compañeros de aula, a nuestro tutor y todos los que hicieron de esta una experiencia especial.

Luis Alejandro

Pedro Leónidas

AGRADECIMIENTO

Agradecemos en primer lugar a Dios por mantenernos firmes, fuertes y llenos de fe para culminar algo que pareció imposible en algún momento.

A la a la Universidad Estatal de Bolívar, en especial a la Facultad de Ciencias Agropecuarias Recursos Naturales y del Ambiente y sus docentes, quienes han colaborado en mi formación como profesional.

De manera muy especial al Ing. César Barberán Barberán, Director del proyecto, por todo el soporte y la ayuda brindada.

Al Ing. Kléber Espinosa Mora, Biometrista por sus consejos brindados y su aporte técnico y científico.

A la Ing. Sonia Fierro Borja en el Área de Redacción Técnica por la ayuda en la redacción de este informe. A la Lic. Mirian Aguay por su apoyo logístico.

A todos los que fueron nuestros maestros y compañeros en cada nivel, a cada una de las personas que participaron en el proceso investigativo, por su apoyo en todo momento a nuestra amada familia.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Nº	CONTENIDO	PÁG.
I	INTRODUCCIÓN	1
II	PROBLEMA	3
III	MARCO TEÓRICO	4
3.1.	Origen	4
3.2.	Clasificación taxonómica	4
3.3.	Descripción morfológica de la planta	5
3.3.1.	Raíz	5
3.3.2.	Tallo y ramas	5
3.3.3.	Hojas	5
3.3.4.	Flores	5
3.3.5.	Fruto y semillas	6
3.4.	Biotecnología generalidades	6
3.5.	Cultivo de tejidos	6
3.5.1.	Generalidades del cultivo de tejidos	7
3.6.	Cultivo de embriones	8
3.6.1.	Cultivo de embriones inmaduros	8
3.6.2.	Cultivo de embriones maduros	8
3.7.	Fases del cultivo de embriones	9
3.8.	Micropropagación	9
3.9.	Sistemas de propagación	10
3.9.1.	Cultivo de callo in vitro	11
3.9.2.	El medio puede ser sólido o líquido	11
3.9.3.	Otros métodos de propagación	11
3.9.4.	Fases del cultivo	12
3.9.5.	Elongación	12
3.9.6.	Enraizamiento	13
3.9.7.	Aclimatación	13
3.9.8.	Medio de cultivo de Murashige y Skoog	14
3.10.	Ácido giberélico	15
3.10.1.	Aplicaciones	16
3.10.2.	Recomendaciones de uso	16
3.11.	Características edafoclimáticas	17
3.11.1.	Condiciones climáticas	17
3.11.2.	Suelo	17
3.11.3.	Temperatura	17
3.11.4.	Precipitación	18
3.11.5.	Humedad relativa	18
3.11.6.	Viento	18
IV.	MARCO METODOLÓGICO	19
4.1.	Materiales	19

4.1.1.	Localización de la investigación	19
4.1.2.	Situación geográfica y climática	19
4.1.3.	Zona de vida	19
4.1.4.	Material experimental	20
4.1.5.	Materiales de campo	20
4.1.6.	Materiales de laboratorio	20
4.1.7.	Materiales de oficina	21
4.2.	Métodos	21
4.2.1.	Factores en estudio	21
4.2.1.1.	Factor A: Variedades de naranja	21
4.2.1.2.	Factor B: Dosis de ácido giberélico	22
4.2.2.	Tratamientos	22
4.2.3.	Procedimiento	22
4.2.4.	Tipos de análisis	23
4.3.	Métodos de evaluación y datos tomados	23
4.3.1.	Días a la germinación (DG)	23
4.3.2.	Porcentaje de semillas germinadas (PSG)	23
4.3.3.	Número de magentas contaminadas (NMC)	24
4.3.4.	Número de explantes por embriones (NEE)	24
4.3.5.	Longitud del explante (LE)	24
4.3.6.	Número de hojas por explante (NHE)	24
4.3.7.	Días a transferir a un medio de multiplicación (DTMM)	24
4.3.8.	Días al medio de enraizamiento (DME)	24
4.3.9.	Días a la emisión de raíces (DER)	25
4.3.10.	Volumen de raíz (VR)	25
4.3.11.	Días a la transferencia a condiciones ambientales medioambientales externas (DTCME)	25
4.3.12.	Porcentaje de mortalidad de las plantas al trasplante a condiciones externas desde que se saca (PMPTCE)	25
4.3.13.	Longitud de la hoja (LH)	25
4.3.14.	Ancho de la hoja (AH)	26
4.3.15.	Diámetro del tallo (DT)	26
4.3.16.	Diámetro del pecíolo (DP)	26
4.3.17.	Altura de la planta (AP)	26
4.3.18.	Número de entrenudos (NE)	26
4.3.19.	Longitud de entrenudos (LE)	26
4.4.	Manejo del experimento	27
4.4.1.	Elaboración del medio de cultivo	27
4.4.2.	Soluciones madres según Murashige y Skoog	28
4.4.3.	Selección de plantas madres para recolección de frutos	28
4.4.4.	Selección de frutos en la planta	28
4.4.5.	Selección de frutos maduros	29
4.4.6.	Desinfección del fruto	29
4.4.7.	Desinfección del fruto en laboratorio	29
V.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30

5.1.	Variables agronómicas para el Factor A: Variedades de naranja	30
5.1.1.	Variables registradas en el laboratorio	33
5.1.1.1.	Días a la germinación	34
5.1.1.2.	Porcentaje de semillas germinadas	34
5.1.1.3	Número de explantes por embriones	35
5.1.1.4	Longitud del explante (45 y 90 días)	35
5.1.1.5	Número de hojas por explante	36
5.1.1.6.	Días a transferir a un medio de multiplicación	37
5.1.2.	Variables registradas en el ambiente exterior	37
5.1.2.1	Días al medio de enraizamiento	38
5.1.2.2.	Días a la emisión de raíces	38
5.1.2.3.	Volumen de raíz	39
5.1.2.4.	Días a la transferencia a condiciones ambientales medioambientales externas	39
5.1.2.5.	Longitud de la hoja	40
5.1.2.6.	Ancho de la hoja	40
5.1.2.7.	Diámetro del tallo	41
5.1.2.8.	Diámetro del pecíolo	42
5.1.2.9	Altura de la planta	42
5.1.2.10.	Número de entrenudos	43
5.1.2.11.	Longitud de entrenudos	44
5.2.	Variables agronómicas de Factor B: Dosis de ácido giberélico	44
5.2.1.	Variables registradas en el laboratorio	46
5.2.1.1.	Días a la germinación	47
5.2.1.2.	Porcentaje de semillas germinadas	47
5.2.1.3.	Número de explantes por embriones	48
5.2.1.4.	Longitud del explante	48
5.2.1.5.	Número de hojas por explante	49
5.2.1.6.	Días a transferir a un medio de multiplicación	50
5.2.2.	Variables registradas en el ambiente exterior	50
5.2.2.1.	Días al medio de enraizamiento	51
5.2.2.2.	Días a la emisión de raíces	51
5.2.2.3.	Volumen de raíz	52
5.2.2.4.	Días a la transferencia a condiciones ambientales medioambientales externas	52
5.2.2.5.	Longitud de la hoja	53
5.2.2.6.	Ancho de la hoja	53
5.2.2.7.	Diámetro del tallo	54
5.2.2.8.	Diámetro del pecíolo	55
5.2.2.9.	Altura de la planta	55
5.2.2.10.	Número de entrenudos	56
5.2.2.11.	Longitud de entrenudos	57
5.3.	Variables agronómicas interacción de factores A x B	58
5.3.1.	Variables registradas en el laboratorio	61

5.3.1.1.	Días a la germinación	62
5.3.1.2.	Porcentaje de semillas germinadas	62
5.3.1.3.	Número de explantes por embriones	63
5.3.1.4.	Longitud del explante (45 días)	63
5.3.1.5.	Longitud del explante (90 días)	64
5.3.1.6.	Número de hojas por explante	65
5.3.1.7.	Días a transferir a un medio de multiplicación	66
5.3.2.	Variables registradas en el ambiente exterior	66
5.3.2.1.	Días al medio de enraizamiento	67
5.3.2.2.	Días a la emisión de raíces	67
5.3.2.3.	Volumen de raíz	68
5.3.2.4.	Días a la transferencia a condiciones ambientales medioambientales externas	68
5.3.2.5.	Longitud de la hoja	69
5.3.2.6.	Ancho de la hoja	70
5.3.2.7.	Diámetro del tallo	70
5.3.2.8.	Diámetro del pecíolo	71
5.3.2.9.	Altura de la planta	72
5.3.2.10.	Número de entrenudos	72
5.3.2.11	Longitud de entrenudos	73
5.4.	Análisis de correlación y regresión lineal	73
5.4.1	Coefficiente de correlación “r”	74
5.4.2	Coefficiente de regresión “b”	74
5.4.3	Coefficiente de determinación (R^2 %)	74
5.5.	Análisis de la relación beneficio/costo (B/C).	75
VI.	COMPROBACIÓN DE HIPÓTESIS	77
VII.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	78
7.1.	Conclusiones	78
7.2.	Recomendaciones	79
	BIBLIOGRAFÍA	80
	ANEXOS	

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO N°	DENOMINACIÓN	PÁG.
1	Resultados de la prueba de Tukey al 5% en el Factor A: Variedades de naranjas: A1: Naranja Común, A2: Naranja Valencia, A3: Naranja Tanyellow, A4: Naranja Lima, A5: Naranja Agria en las variables: Días a la germinación (DG), Porcentaje de semillas germinadas (PSG), Número de magentas contaminadas (NMC), Número de explantes por embriones (NEE), Longitud del explante (LE) (45 y 90 días), Número de hojas por explante (NHE), Días a transferir a un medio de multiplicación (DTMM), Días al medio de enraizamiento (DME), Días a la emisión de raíces (DER), Volumen de raíz (VR), Días a la transferencia a condiciones medioambientales externas (DTCME), Porcentaje de mortalidad de las plantas al trasplante a condiciones externas (PMPTCE), Longitud de la hoja (LH), Ancho de la hoja (AH), Diámetro del tallo (DT), Diámetro del pecíolo (DP), Altura de la planta (AP), Número de entrenudos (NEN) y Longitud de entrenudos (LEN), (Guaranda. 2017)...	30
2	Resultados de la prueba de Tukey al 5% en el Factor B: Dosis de ácido giberélico: B1: 10 mg/l, B2: 25 mg/l, B3: 40 mg/l en las variables: Días a la germinación (DG), Porcentaje de semillas germinadas (PSG), Número de magentas contaminadas (NMC), Número de explantes por embriones (NEE), Longitud del explante (LE) (45 y 90 días), Número de hojas por explante (NHE), Días a transferir a un medio de multiplicación (DTMM), Días al medio de enraizamiento (DME), Días a la emisión de raíces (DER), Volumen de raíz (VR), Días a la transferencia a condiciones medioambientales externas (DTCME), Porcentaje de mortalidad de las plantas al trasplante a condiciones externas (PMPTCE), Longitud de la hoja (LH), Ancho de la hoja (AH), Diámetro del tallo (DT), Diámetro del pecíolo (DP), Altura de la planta (AP), Número de entrenudos (NEN) y Longitud de entrenudos (LEN), (Guaranda. 2017).....	44
3	Resultados para comparar los promedios de tratamientos A x B: Variedades de naranja x Dosis de ácido giberélico en las variables: Días a la germinación (DG), Porcentaje de semillas germinadas (PSG), Número de magentas contaminadas (NMC), Número de explantes por embriones (NEE), Longitud del explante (LE) (45 y 90 días), Número de hojas por explante (NHE), Días a transferir a un medio de multiplicación (DTMM), Días al medio de enraizamiento (DME), Días a la emisión de raíces (DER), Volumen de raíz (VR), Días a la transferencia a condiciones medioambientales externas (DTCME), Porcentaje de mortalidad de las plantas al trasplante a condiciones externas (PMPTCE), Longitud de la hoja (LH), Ancho de la hoja (AH), Diámetro del tallo (DT), Diámetro del pecíolo (DP), Altura de la planta (AP), Número de entrenudos (NEN) y Longitud de entrenudos (LEN), (Guaranda 2017)...	58
4	Resultado del análisis de correlación y regresión lineal de las variables independientes (Xs), que tuvieron una significativa positiva sobre la	

	altura de planta (Variable dependiente Y) en plantas de naranja, (Guaranda. 2017).....	73
5	Costo total del ensayo.....	75
6	Cálculo de la relación beneficio costo (B/C).....	76

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO Nº	DENOMINACIÓN	PÁG.
VARIABLES AGRONÓMICAS DE FACTOR A: VARIEDADES DE NARANJA		
VARIABLES REGISTRADAS EN EL LABORATORIO		
1	Días a la germinación.....	33
2	Porcentaje de semillas germinadas.....	34
3	Promedios número de explantes por embriones.....	34
4	Promedios de longitud del explante (45 y 90 días).....	35
5	Promedios de número de hojas por explante.....	36
6	Días a transferir a un medio de multiplicación.....	37
VARIABLES REGISTRADAS EN EL AMBIENTE EXTERIOR		
7	Días al medio de enraizamiento.....	37
8	Días a la emisión de raíces.....	38
9	Promedios de volumen de raíz.....	38
10	Días a la transferencia a condiciones medioambientales externas.....	39
11	Promedios de longitud de la hoja.....	39
12	Promedios de ancho de la hoja.....	40
13	Promedios de diámetro del tallo.....	41
14	Promedios de diámetro del pecíolo.....	41
15	Promedios de altura de la planta.....	42
16	Promedios número de entrenudos.....	43
17	Promedios longitud de entrenudos.....	43
VARIABLES AGRONÓMICAS DE FACTOR B: DOSIS DE ÁCIDO GIBERÉLICO		
VARIABLES REGISTRADAS EN EL LABORATORIO		
18	Días a la germinación.....	46
19	Porcentaje de semillas germinadas.....	47
20	Promedios de número de explantes por embriones.....	47
21	Promedios de longitud del explante (45 y 90 días).....	48
22	Promedios de número de hojas por explante.....	49
23	Días a transferir a un medio de multiplicación.....	50
VARIABLES REGISTRADAS EN EL AMBIENTE EXTERIOR		
24	Días al medio de enraizamiento.....	50
25	Días a la emisión de raíces.....	51
26	Promedios de volumen de raíz.....	51
27	Días a la transferencia a condiciones medioambientales externas.....	52
28	Promedios de longitud de la hoja.....	52
29	Promedios de ancho de la hoja.....	53
30	Promedios de diámetro del tallo.....	54
31	Promedios de diámetro del pecíolo.....	54
32	Promedios de altura de la planta.....	55

33	Promedios número de entrenudos.....	56
34	Promedios longitud de entrenudos.....	56

Variables agronómicas Interacción A x B

Variables registradas en el laboratorio

35	Interacción de factores A x B en días a la germinación.....	61
36	Interacción de factores A x B en porcentaje de semillas germinadas...	62
37	Interacción de factores A x B en número de explantes por embriones.	62
38	Interacción de factores A x B en longitud del explante (45 días).....	63
39	Interacción de factores A x B en longitud del explante (90 días).....	64
40	Interacción de factores A x B en número de hojas por explante.....	65
41	Interacción de factores A x B en días a transferir a un medio de multiplicación.....	66

Variables registradas en el ambiente exterior

42	Interacción de factores A x B en días al medio de enraizamiento.....	66
43	Interacción de factores A x B en días a la emisión de raíces.....	67
44	Interacción de factores A x B en volumen de raíz.....	67
45	Interacción de factores A x B en días a la transferencia a condiciones medioambientales externas.....	68
46	Interacción de factores A x B en longitud de la hoja.....	69
47	Interacción de factores A x B en ancho de la hoja.....	69
48	Interacción de factores A x B en diámetro del tallo.....	70
49	Interacción de factores A x B en diámetro del pecíolo.....	71
50	Interacción de factores A x B en altura de la planta.....	71
51	Interacción de factores A x B en número de entrenudos.....	72
52	Interacción de factores A x B en longitud de entrenudos.....	73

ÍNDICE DE ANEXOS

**ANEXO
N°**

DENOMINACIÓN

- 1 Mapa satelital del lugar de la investigación.
- 2 Base de datos de la investigación, 2017.
- 3 Fotografías de la instalación, seguimiento y evaluación de la investigación.
- 4 Glosario de términos técnicos

RESUMEN

Los cítricos con razón, puede ser considerados una fruta universal, con producción en más de 100 países en los seis continentes. En Ecuador la mayor producción de cultivo de naranja se concentra en las provincias de Bolívar, Los Ríos y Manabí. En el cultivo in vitro de embriones inmaduros, el tamaño inicial del embrión ha mostrado tener una gran influencia en el resultado del cultivo, creciendo la dificultad a medida que el tamaño disminuye. En esta investigación se plantearon los siguientes objetivos: Evaluar las características agro-morfológicas que presentan las plántulas de las cinco variedades de naranja. Identificar la dosis de ácido que proporcionó el mayor desarrollo de las plántulas de naranja. Realizar un análisis de la relación beneficio costo (B/C). La presente investigación se realizó en Laguacoto II, en los laboratorios de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, ubicado en la parroquia Veintimilla del cantón Guaranda, provincia Bolívar. Se utilizaron embriones maduros de cinco variedades de naranja en estado de pre maduración y tres dosis de ácido giberélico, un Tipo de diseño: Bloques Completamente al Azar (DBCA). Factorial de 5 x 3 x 3 repeticiones con un análisis de varianza (ADEVA). Se evaluó: Prueba de Tukey al 5% para comparar media de tratamientos del FA y FB; Análisis de correlación y regresión simple y Análisis de la relación beneficio costo (B/C). La respuesta de las variedades de naranja (Factor A), en cuanto a las características agro-morfológicas registradas fueron similares; sin embargo el mayor promedio de altura se registró en A3: Naranja Tanyellow con 6.40 cm. En cuanto a la respuesta de las dosis de ácido giberélico (Factor B), se pudo identificar que hubo mayor promedio de altura en B1: 1.0 mg con 6.33 cm. En la interacción de factores A x B el mejor tratamiento fue T7: (A3B1) N. Tanyellow + 1.0 mg (A.G) con un promedio de 6.67 cm con respecto a los demás tratamientos. De acuerdo al análisis económico el mejor tratamiento fue el T7: (A3B1) N. Tanyellow + 1.0 mg (A.G) presentando el beneficio neto más alto de \$ 124.08; con una relación beneficio costo (B/C) de \$ 0.65 USD, esto quiere decir que por cada dólar invertido el productor de planta de naranja in vitro recibe \$ 0.65 USD.

SUMMARY

The citrus fruit can rightly be considered a universal fruit, with production in more than 100 countries in the six continents. In Ecuador, the highest production of orange cultivation is concentrated in the provinces of Bolívar, Los Ríos and Manabí. In the *in vitro* culture of immature embryos, the initial size of the embryo has been shown to have a great influence on the result of the culture, increasing the difficulty as the size decreases. In this research, the following objectives were proposed: To evaluate the agro-morphological characteristics of the seedlings of the five orange varieties. Identify the acid dose that provided the greatest development of the orange seedlings. Perform an Analysis of the benefit cost ratio (B/C). The present investigation was conducted in Laguacoto II, in the laboratories of the Faculty of Agricultural Sciences, located in the Veintimilla parish of the Guaranda canton, Bolívar province. Mature embryos of five varieties of orange were used in the pre-ripening state and three doses of gibberellic acid, one Type of design: Completely Random Blocks (DBCA). Factorial of 5 x 3 x 3 repetitions with an analysis of variance (ADEVA). The following was evaluated: Tukey test at 5% to compare average of AF and FB treatments; Correlation and simple regression analysis and analysis of the cost benefit ratio (B/C). The response of the orange varieties (Factor A), in terms of the agro-morphological characteristics recorded were similar; however, the highest average height was recorded in A3: Orange Tanyellow with 6.40 cm. Regarding the response of the doses of gibberellic acid (Factor B), it was possible to identify that there was a higher average height in B1: 1.0 mg with 6.33 cm. In the interaction of factors A x B the best treatment was T7: (A3B1) N. Tanyellow + 1.0 mg (A.G) with an average of 6.67 cm with respect to the other treatments. According to economic analysis, the best treatment was T7: (A3B1) N. Tanyellow + 1.0 mg (A.G) presenting the highest net benefit of \$ 124.08; with a cost benefit ratio (B/C) of \$ 0.65 USD, this means that for every dollar invested the *in vitro* orange plant producer receives \$ 0.65 USD.

I. INTRODUCCIÓN

Los cítricos con razón, pueden ser considerados una fruta universal, con producción en más de 100 países en los seis continentes. Por otra parte, los cítricos es el cultivo frutal más importante en el mundo, con una producción actual en el mundo muy por encima de todas las frutas de hoja caduca de los árboles. (www.comenaranjas.com/es/blog/282-citricos-produccion-mundial-de-naranjas-y-mandarinas.html)

Los principales productores de naranja en el año 2013 fueron Brasil con el 30.42% de participación en la producción mundial, seguido por China con 14.66% y la Unión Europea con el 13.26%, Estados Unidos con 11.39%. México el 9.35% y Egipto con el 6.22% del total de la producción mundial. (SINAGAP. Sistema de Información Nacional de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca. 2015)

En Ecuador la mayor producción de cultivo de naranja se concentra en las provincias de Bolívar, Los Ríos y Manabí. En el país hay apenas 19.486 hectáreas plantadas que producen no más de 42.000 toneladas cada año, el 65.56% concentrado en una provincia: Bolívar, la mayoría en el cantón Caluma. (<http://elproductor.com/2015/04/20/ecuador-un-agrio-futuro-eselque-sevislumbra-para-las-naranjas/>)

En el cultivo in vitro de embriones inmaduros, el tamaño inicial del embrión ha mostrado tener una gran influencia en el resultado del cultivo, creciendo la dificultad a medida que el tamaño disminuye. El estudio del comportamiento de embriones de diferente tamaño cobra una gran importancia para optimizar las condiciones de germinación in vitro de embriones. En los programas de mejora de especies frutales adquiere gran importancia la reducción del tiempo para la obtención de una nueva generación. La estratificación y germinación in vitro de los embriones inmaduros permite mejorar tanto el porcentaje de su germinación como acortar el tiempo necesario para el desarrollo de la nueva plántula. Asimismo, el cultivo de embriones permite

superar con éxito la falta de viabilidad de las semillas procedentes de cruzamientos.
(Marín, J. *et al.* 2002)

En esta investigación se plantearon los siguientes objetivos:

- Evaluar las características agro-morfológicas que presentan las plántulas de las cinco variedades de naranja.
- Identificar la dosis de ácido que proporcionó el mayor desarrollo de las plántulas de naranja.
- Realizar un análisis económico de la relación beneficio/costo (B/C).

II. PROBLEMA

El desconocimiento de multiplicación in vitro de plantas por medio de embriones inmaduros en naranja y la falta de recursos para poder adquirir un laboratorio, hace que no se realice este tipo de prácticas que son de interés para el desarrollo de la ciencia en la agricultura, convirtiéndose en algo imposible para la mayoría de profesionales y estudiantes vinculados a la producción de plantas.

La falta de protocolos para la multiplicación de naranjas no existe en el País, por otro lado no existen viveros que provean plantas certificadas, las mismas que presentan muchos problemas de plagas y enfermedades, siendo la multiplicación in vitro a partir de embriones inmaduros que, nos permite la multiplicación de estas variedades libres de plagas y enfermedades.

El consumo de naranjas ecuatorianas está limitado a nueve meses. Durante los otros tres llega la fruta peruana o colombiana, porque las plantas nacionales son viejas. No hay acceso a nuevas variedades, no existe investigación (al menos conocidas), ni un sistema de comercialización eficiente que garantice un retorno atractivo para los campesinos.

La mayoría de plantaciones de naranja tienen un promedio de vida de entre treinta y cincuenta años, son huertos antiguos, mediante la multiplicación in vitro las plantaciones tienen que renovarse con el uso de técnicas modernas que permiten ofrecer plantas certificadas, libres de plagas, enfermedades.

Además se probó el protocolo con diferentes dosis de hormonas para determinar el mejor modo para cultivar estas variedades. No existen trabajos realizados en este tema, es por esto que se realizó esta investigación con un protocolo para la obtención de

plantas certificadas y de calidad, tratadas en el laboratorio por medio de cultivos In vitro.

III. MARCO TEÓRICO

3.1. Origen

Los cítricos (*Citrus sp.*) son originarios del Noroeste de India y partes colindantes de China y Burma. Desde allí se han distribuido por todo el mundo subtropical y las tierras elevadas de los trópicos, la gran diversidad de especies, la facilidad con que ellos se cruzan y la producción espontánea de autotetraploides hacen que haya prácticamente un “cítrico” apropiado para cada clima tropical particular. (Bonilla, L. 2008)

Las primeras plantaciones comerciales para el consumo en fresco datan de finales del siglo XVIII y se han ido ampliando hasta alcanzar en la actualidad una extensa superficie destinada a su cultivo. Esto ha permitido desarrollar técnicas, basada en la óptima adaptación del cultivo al entorno agroclimático y en la calidad de las producciones obtenidas. El cultivo in vitro es un método de propagación de plantas de aplicación profesional, puesto que se realiza en laboratorio, en unas condiciones estériles y con unas instalaciones especiales. (Montolui, A. 2010)

3.2. Clasificación taxonómica

Reino:	Vegetal
División.	Embryophyta
Clase:	Dicotiledónea
Orden:	Geraniales
Familia:	Rutácea
Subfamilia:	Aurantioideae
Género:	Citrus

Especies principales: *sinensis*, *reticulata*, *aurantifolia* y *paradisii*
(Valarezo, A. *et al.* 2014)

3.3. Descripción morfológica de la planta

3.3.1. Raíz

Las raíces proporcionan al árbol anclaje y soporte de la planta, a la vez que sirven como medio para obtener nutrientes y humedad del suelo. La raíz es típica y el sistema radical es extensivo llegando a penetrar hasta cinco metros, los cítricos tienen gran cantidad de raíces absorbentes la mayoría están bajo setenta centímetros del suelo. (Bonilla, L. 2008)

3.3.2. Tallo y ramas

Los cítricos presentan un tronco corto y ramificado con follaje denso. El ramaje, a veces espinoso tiene varios periodos de crecimiento, siendo el principal el de primavera. (www.delevantecitricos.blogspot.com)

3.3.3. Hojas

Las hojas son deciduas; trifoliadas o compuestas pinnadas, alternas, sin estipulas con fuerte olor. Presentan cavidades secretoras lisigenas, en algunas especies reducidas a espinas. (García, F. 2009)

3.3.4. Flores

Sus flores bisexuales, actinomorfas, en varios tipos de inflorescencias; el perianto es biseriado, imbricado, con 3 a 5 sépalos y de 3 a 5 pétalos; flor hipógina o perigina con

disco presente, con 3 a 10 estambres; ovario supero con 4 o 5 lóculos y con 1 o 2 óvulos por lóculo y un solo estigma. (Avilan, L. 2010)

3.3.5. Fruto y semillas

Es una baya llamado Hesperidio, se origina del desarrollo del ovario y consiste de diez carpelos. El flabelo es la parte externa y coloreada del fruto, el endocarpio es la parte interna del pericarpio, el mesocarpio o albedo es la parte blanca de la cascara entre el mesocarpio y el endocarpio. Las vesículas de jugo son las partes comestibles del fruto, donde se encuentran diseminadas las semillas. Las semillas son generalmente poliembriónicas son excepción del pomelo y cidra. (Bonilla, L. 2008)

3.4. Biotecnología generalidades

Con las técnicas de la biotecnología es posible producir más rápidamente que antes, nuevas variedades de plantas con características mejoradas, produciendo en mayores cantidades, con tolerancia a condiciones adversas, resistentes a herbicidas específicos, control de plagas. Como referencia tenemos subcultivos o repicados. Cuando sembramos microestaquillas en cultivo in vitro, no nos interesa que se emitan raíces ni hijas, sino que se produzca una proliferación (crecimiento) para obtener nuevas microestaquillas. Son los que se denominan subcultivos. No se puede hacer infinitamente ya que se agota el material vegetal; tan solo se hace 8-10 veces. Ocurre entonces lo siguiente:

- El medio nutritivo se agota y se seca.
- El material vegetal ocupa todo el tubo.
- Se produce un cambio de olor en el medio (sustancias toxicas).

- El medio se hace líquido.(www.monografias.com)

3.5. Cultivo de tejidos

El cultivo de tejidos es un conjunto de métodos cuyos orígenes datan de principios del siglo XX, para el estudio del comportamiento de células aisladas, de tejidos o bien de órganos in vitro para intentar reducir el efecto de las variaciones que ocurren de manera natural en el ambiente del organismo completo. Existen diferentes tipos de cultivos, y el término “cultivo de tejidos” es el nombre genérico para incluir tanto el cultivo de órganos como el cultivo de células. (<http://www.ibt.unam.mx/embrion/002.html>.)

Parar lograr un cultivo in vitro de plantas, tejidos y órganos (incluyendo semillas) debe ser esterilizado (asepsia) y se cultivan en soluciones nutritivas especiales, con frecuencia en medio solidificados con agar. A estos medios de cultivo se le incorpora combinaciones adecuadas de auxinas y citocininas. Con la aplicación de estas y controlado el pH, luz y temperatura, es posible reproducir todos los factores que puedan incidir en el crecimiento y desarrollo de los tejidos o de las plantas in vitro. (<http://www.sp.edu.sg/schools/cls/bioline08.html>)

3.5.1. Generalidades del cultivo de tejidos

El cultivo de tejidos en su acepción amplia puede ser definido como un conjunto muy heterogéneo de técnicas que presentan en común el hecho de que un explante (una parte separada del vegetal que pueden ser protoplastos –células desprovistas de pared celular– células, tejidos u órganos), se cultiva asépticamente en un medio artificial de composición química definida y se incuba en condiciones ambientales controladas. (Cruz, F. 2012)

Las razones que determinan que el cultivo in vitro de células y tejidos vegetales constituya a una tecnología interesante para la producción de plantas y productos naturales de interés, son las siguientes:

- La producción de plantas de sanidad controlada, lo que permite incrementos en los rendimientos.
- La independencia del clima, suelo, distribución geográfica y problemas socio-políticos.
- La capacidad de establecer un sistema de producción definido, en la relación a las demandas del mercado.
- El cultivo de especies no domesticadas y/o difíciles de cultivar a campo.
- La conservación del germoplasma de plantas de interés comercial o en vías de extinción.
- La posibilidad de establecer programas de mejoramientos genéticos, más rápidos que en cultivos tradicionales, por técnicas biotecnológicas e ingeniería genética. (Uribe, M. *et al.* 2002)

3.6. Cultivo de embriones

El cultivo de embriones tiene como propósito estudiar los requerimientos nutricionales de embriones en desarrollo, rescatar embriones híbridos que se hayan derivado de cruzamientos interespecíficos, producir monoploides y superar la latencia de las semillas. El desarrollo de los embriones vegetales se caracteriza por dos estados: el estado temprano que es heterotrófico y el estado tardío que es autotrófico. Los embriones globulares heterotróficos se desarrollan a expensas del endospermo y poseen una baja capacidad de ciertos nutrimentos como hormonas, aminoácidos, carbohidratos, vitaminas, purinas y pirimidinas que se encuentran en el saco embrionario. El cultivo de embriones consiste en el aislamiento y crecimiento, *in vitro* en condiciones estériles, de un embrión inmaduro, con el fin de obtener una planta viable. En principio existen dos tipos de cultivos de embriones. (Cervantes, Y. 2013)

3.6.1. Cultivo de embriones inmaduros

Que se originan en semillas no acabadas de madurar este tipo de cultivo se utiliza sobre todo para impedir el aborto embrionario (muerte prematura del embrión), y con el fin de obtener una planta viable. (Rodríguez, N. *et al.* 2007)

3.6.2. Cultivo de embriones maduros

Se encuentran a su vez en semillas madura. Este tipo de cultivo es relativamente fácil, y se utiliza, por ejemplo, para eliminar la inhibición, (absoluta) de germinación de las semillas. Suele ser suficiente en estos casos el uso de un medio nutritivo simple, con agar, azúcar y minerales. (Rodríguez, N. *et al.* 2017)

3.7. Fases del cultivo de embriones

Se utiliza mucho en manzano.

- Se desinfecta el fruto en alcohol.
- Se flamea.
- Se coge el embrión de la semilla.
- Se inocula en el tubo.
- Entre una y dos semanas, la planta está más o menos reconocible.
- Se deja crecer y pasar por fases de aclimatación. (<http://siaripre.blogspot.com>)

3.8. Micropropagación

Es la propagación de un genotipo a gran escala a través del empleo de técnicas de cultivo de tejidos. Es una herramienta muy útil en los programas de mejoramiento, ya que tiene el potencial de producir plantas de calidad, a partir de un genotipo selectivo y con una tasa de multiplicación ilimitada. (<http://www.ecured.cu.html>)

La propagación de plantas in vitro o micropropagación, es una técnica muy utilizada en cultivos de importancia económica. Los cultivos son realizados por personas especializadas, con agentes específicos (hormonas, minerales, vitaminas, fuente de carbono agente gelificante, agua, etc.) y en condiciones ambientales controladas (temperatura, humedad y luz). Los pasos son:

- Elección de la planta original donante de explantos.
- Obtención y desinfección de los explantos.
- Adaptación de explantos al medio de cultivo.
- Formación de raíces con el fin de convertir los brotes en plántulas completas.
- Aclimatación de las plántulas obtenidas in vitro a las condiciones medioambientales.
(Olmos, S. *et al.* 2012)

Las ventajas de este método es que permite obtener muchos individuos iguales en una pequeña superficie, controlar las condiciones ambientales, estudiar diversos procesos de plantas y evita el riesgo de que proliferen agentes patógenos (se realiza en medios esterilizados). Constituye uno de los métodos que mayores logros ha aportados al desarrollo de la agricultura. (Malajovich, M. 2017)

El proceso de micropropagación parte de una yema, de bráctea o axilar. Se empieza a desarrollar en el medio de cultivo. Entre las fase de proliferación y de enraizamiento hay muchos subcultivos (para obtener más plantas). El número de subcultivos depende del material vegetal. Como referencia tenemos ejemplos de micropropagación de kiwi:

- Se parte de un trozo de tallo.
- Al cabo de cuatro semanas se obtiene una yema y crece un brote.
- En la fase de proliferación intentamos obtener gran cantidad de brotes.
- Sacamos microestaquillas del primer brote, haciendo subcultivos cada seis y ocho semanas hasta llenar el vidrio.
- Al aumentar la concentración de auxinas se obtienen plantas enraizadas.
- Puede hacerse de forma industrial y la fase de enraizamiento se hace in vivo.
(<http://www.csic.es/departament/genetica/torne.html>)

3.9. Sistemas de propagación

Los cítricos pueden propagarse sexual o asexualmente. La reproducción sexual permite obtener plantas rústicas, vigorosas y de vida larga, pero da lugar a una variabilidad en la

descendencia que afecta el valor comercial de las cosechas; aunque el cítrico se distingue de las demás especies frutales porque una semilla puede tener más de un embrión (poliembriónia), que permite obtener plantas genéticamente idénticas a la planta madre. (<http://tecnicitrico.blogspot.html>.)

3.9.1. Cultivo de callo in vitro

Un callo es una masa de células indiferenciadas que crece a partir de un explante. Una vez establecido en un medio de cultivo, el callo puede ser subdividido cada tres o cuatro semanas y mantenido indefinidamente en un medio nutritivo de igual composición. Su transferencia a medios de cultivo con diferentes concentraciones de hormonas induce la embriogénesis y/o la organogénesis. (Malajovich, M. 2017)

3.9.2. El medio puede ser sólido o líquido

Se forma una estructura de callo, de la que parten brotes, o también proembriones, que al unirse forman una estructura similar al embrión. Al inicio de la fase exponencial, el porcentaje de aumento de la biomasa es inferior al que corresponde al aumento en el número de células, pero esta relación luego se invierte debido al incremento del tamaño celular. El peso fresco continúa aumentando después que el peso seco ha alcanzado su máximo, debido a la captación de agua. (http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/2211/4_Cultivo_in_vitro.df?sequence=6)

3.9.3. Otros métodos de propagación

Con el paso de los años se han desarrollado algunos otros métodos, además de los cultivos de meristemas, para clonar orquídeas en pequeñas escalas. Utilización de hojas jóvenes. Las hojas jóvenes y los ápices de hojas, por ejemplos de *Cattleya*, forman callos en sus bases, a partir de los cuales se pueden formar protocormos, que se pueden utilizar para la subsiguiente multiplicación. Yemas durmientes. Se pueden obtener vástagos a partir de primordios jóvenes de yemas forales, o de yemas basales. Inflorescencias jóvenes se desarrollan in vitro a partir de explantos de inflorescencia jóvenes. (Sergretin, M. 2017)

3.9.4. Fases del cultivo

En principios las plantas se pueden multiplicar de dos maneras: Vegetativamente (de forma asexual, también llamada clonada), y de forma generativa (sexualmente, por semillas). Los dos tipos de propagación pueden ser imposibles en determinadas condiciones. Cuando la multiplicación sexual no es satisfactoria (no se forman semillas, o se forman muy pocas, las semillas pierden rápidamente su capacidad germinativa), se suele buscar la germinación vegetativa. La multiplicación sexual puede también ser poco conveniente cuando la descendencia obtenida es muy heterogénea. (Cruz, F. 2017)

Los métodos clásicos de la reproducción in vitro o bien son insuficientes para las necesidades reales (demasiado lento, difíciles o caros) o a veces son completamente inviabils. En los últimos 10 años, desde que se descubrió que las plantas pueden ser clonadas más rápidamente in vitro que in vivo, los conocimientos acerca de la propagación vegetativa in vitro han crecido muy rápidamente. Siendo esto cierto, tanto para la planta para las regiones templadas, como para las regiones subtropicales y tropicales. En la actualidad algunas especies que no son susceptibles de clonado in vivo pueden ser clonadas por medio de técnicas in vitro. (Sergretin, M. 2017)

3.9.5. Elongación

La elongación es un fenómeno que está relacionado con muchos procesos del crecimiento y desarrollo de las plantas. Durante las primeras fases de embriogénesis hay una fase inicial de elongación que sufre el cigoto después de la fertilización en la cual se forma el proembrión lineal la célula que sufre elongación será la célula que basal elongada que dará lugar al suspensor (conductor de nutrientes desde el tejido materno al embrión) mientras que la célula apical formara el embrión. (Imbrogno, L. *et al.* 2013)

La elongación es muy importante y necesaria en la germinación de semillas en este caso las giberelinas juntos con las longitud del día, periodo de frio dan lugar a las síntesis de

endo-b-mananasa y a-galactosidasa las cuales producen hidrólisis de enlaces en la cubierta del fruto provocando que pueda emerger la radícula y los tejidos envolventes sale al exterior eso se produce mayoritariamente por elongación aunque también existe mitosis. La elongación celular como ya dije anteriormente es un proceso importante en el crecimiento de las plantas ya que solo con un proceso de división celular las células vegetales no aumentan de volumen. (Uribe, M. *et al.* 2002)

3.9.6. Enraizamiento

El enraizamiento in vitro consiste en las siguientes fases de un proceso de micro propagación, consiste en inducir el enraizamiento de microtallos obtenidos en el apartado, para inducir el enraizamiento se suele emplear el medio MS sin citoquininas y con auxinas. En la que se busca la formación de raíces con el fin de convertir los brotes o embriones somáticos en plántulas completas. Por ejemplo un medio de MS con 1 mg/l de AIB. (Sergretin, M. 2017)

3.9.7. Aclimatación

Durante el cultivo in vitro las plantas crecen bajo un ambiente con alta humedad relativa, baja intensidad luminosa, temperatura constante, escaso intercambio gaseoso y medios ricos en compuestos orgánicos, especialmente sacarosa. Estas condiciones provocan cambios en la morfología y la fisiología de las plantas, que las hacen diferir de las que crecen en invernaderos o en el campo. Los cambios fenotípicos que son inducidos por las condiciones ambientales provocan que una gran parte de las plantas micropropagadas no sobrevivan al trasplante en las condiciones naturales, lo que hace necesario aplicar técnicas de aclimatación in vitro o ex vitro que garanticen un retorno gradual a sus características morfológicas normales. La calidad de las plantas y la eficiencia del proceso de micropropagación dependen de la aclimatación del material vegetal. (Cervantes, Y. *et al.* 2013)

En la fase de aclimatación se pretende que las plantas que han crecido in vitro y han estado expuestas a un microambiente escogido por ofrecer condiciones mínimas de estrés y cuasi óptimas condiciones para la multiplicación de las plantas, se adapten a condiciones ex vitro donde las condiciones no son asépticas, ni la luz, temperatura y humedad están controladas, y donde el crecimiento tiende a ser autotrófico y no heterotrófico como in vitro. (<https://es.scribd.com/doc/71499886/Aclimatacion-de-plantulas-producidas-in-vitro>)

3.9.8. Medio de cultivo de Murashige y Skoog

El medio de cultivo MS, se realiza con las siguientes sustancias: Macronutrientes mg/l (NH₄) NO³ 1650 MgSO₄. 7 H₂O 370 KNO₃ 1900 KH₂PO₄ 170 CaCl₂. 2 H₂O 440. Para la realización del medio de cultivo MS se elaboran las siguientes soluciones Madres: soluciones stock de nutrientes: Stock de macronutrientes, Stock de calcio, -Stock de micronutrientes -Stock de hierro y EDTA, Soluciones de stock de vitaminas Soluciones stock de reguladores todas las soluciones se preparan sobre un 70% de agua del volumen final deseado, y sobre ella se van añadiendo uno por uno todos los componentes hasta su completa disolución. (Cortez, V. 2017)

Posteriormente se ajusta el volumen final con agua y se almacenan. Usar 100 ml de las soluciones stock de macronutrientes para preparar 1 litro de medio de cultivo MS. Usar 100 ml de la solución stock de calcio para preparar 1 litro de medio de cultivo MS. Vitaminas mg/l myo-Inositol 100 Tianina HCL 0.1 Acido nicotínico 0.5 Glicina 2.0 Piridoxina HCL 0.5 Micronutrientes mg/l FeSO₄ 7 H₂O 27.8 Na₂EDTA 37.3 H₃BO₃ 6.2 MnSO₄.4H₂O 22.3 ZnSO₄.4H₂O 8.6 Na₂MoO₄.2H₂O 0.25 CuSO₄.5H₂O 0.025 CoCl₂. 6 H₂O 0.025 KI 0.83 g/l Sacarosa 30 Agar 7.5 stock de Macronutrientes MS (x 10) g/LKNO₃ 19.0 NH₄NO₃ 16.5 MgSO₄. 7 H₂O 3.7 KH₂PO₄ 1.7 stock de calcio (x 10) CaCl₂.2H₂O 4.46 Usar 10 ml de soluciones stock de micronutrientes para preparar 1 l de medio de cultivo MS. Stock de Fe-EDTA (x 100) El hierro se puede añadir quelado como producto comercial (por ejemplo, Secuestrene) o preparando el siguiente stock:

- Disolver 3.72 g de EDTA disódico en 900 ml de agua destilada. Se obtendrá una solución clara a los 15 min a temperatura ambiente (25 – 27 °C).
- Añadir 2.78 g de sulfato ferroso heptahidratado. Se obtendrá inmediatamente una solución de color amarillo claro.
- Enrrasar a 1 litro y almacenar la solución de hierro quelado en una botella ambar para protegerla de la exposición a la luz.
- Usar 10 ml de stock de hierro quelado para preparar 1 l de medio de cultivo MS, 10 ml de soluciones stock de vitaminas para preparar 1 l de medio de cultivo MS. Stock de Micronutrientes (x 1000) mg/100ml H₃BO₃ 620 MnSO₄.4H₂O 2230 ZnSO₄.7H₂O 860 KI 83 Na₂MoO₄.2H₂O 25 CuSO₄.5H₂O 2.5 CoCl₂.6H₂O 2.5 stock de vitaminas (x 100) mg/100ml Mioinositol 1000 Tianina HCl 1 ácido nicotínico 5 Piridoxina HCl 5 Glicina 20 7 stock reguladores de crecimiento. (https://www.ecured.cu/Medios_de_cultivo_para_la_propagaci%C3%B3n_in_vitro)

El stock de reguladores de crecimiento se puede hacer una concentración de 1 mg/ - Soluciones de IAA de 1mg/ml -soluciones de Kn de 1 mg/ml-solución de GA3 de 1mg/l -solución de BAP de 1mg/l. las auxinas se pueden disolver primeramente en una pequeña cantidad de etanol al 95%, KOH o NaOH 1 M. una vez disuelta, se añade agua destilada suavemente, procurando que las auxinas no precipiten, hasta alcanzar el volumen deseado. De la misma forma el ácido abscísico se puede disolver previamente en NaOH 1 N y las giberelinas en el etanol al 95%. Las citoquininas se disuelven previamente en una pequeña cantidad de HCl 0.5 N. se puede calentar suavemente para favorecer la disolución y posteriormente el volumen deseado. (Cruz, F. 2012)

3.10. Ácido giberélico

Es un fitorregulador de crecimiento de acción hormonal que estimula y regula el desarrollo de las plantas. La respuesta fisiológica de los vegetales tratados dependerá del estado de desarrollo en que se encuentran; caracterizado por sus efectos fisiológicos y morfológicos. Actúa en concentraciones extremadamente bajas; es traslocado en el interior de la planta y, generalmente, sólo afecta a las partes aéreas. Su efecto más claro consiste en acelerar el crecimiento vegetativo de los brotes produciendo plantas más

grandes. Este efecto se debe principalmente a la elongación de las células pero, en algunos casos, la multiplicación celular también se ve incrementada. (<http://www.tecnicoagricola.es/acido-giberelico/>)

3.10.1. Aplicaciones

Es uno de los reguladores del crecimiento de las plantas más utilizado en la agricultura, la selvicultura y la horticultura; tiene las siguientes funciones fisiológicas: inducir la reproducción monogénicos, estimula el cuajado de la fruta y el crecimiento, rompiendo la latencia de las semillas y la germinación de la aceleración, promoviendo la elongación del tallo, y ampliando la superficie de la hoja. Ayuda a la acumulación de metabolitos en el floema, activa el cambium. Aplicar en plena floración, ácido giberélico puede prevenir la formación de frutos deformes o la reducción de la productividad en el año siguiente, limita los daños causados por las heladas durante la floración. (<http://www.fertilizer.es/8-3-gibberellic-acid.html>)

3.10.2. Recomendaciones de uso

El número de giberelinas descubierto en la naturaleza ha pasado de 27 en 1969 a 45 en 1975 y a 62 en 1986. Sin embargo, sólo 3 de ellas poseen importantes propiedades biológicas: GA₃, GA₄ y GA₇, su cantidad en hongos y vegetales superiores se expresa en ácido giberélico. (<http://www.tecnicoagricola.es/acido-giberelico/>)

3.11. Características edafoclimáticas

3.11.1. Condiciones climáticas

El crecimiento, la producción y la calidad (externa e interna) de los frutos dependen principalmente: del potencial genético y de las condiciones climáticas y edáficas de cada zona o lugar donde se encuentran establecidas las plantaciones cítricas. En el Ecuador, los cítricos se cultivan desde el nivel del mar hasta los 1800 m de altura,

aunque la mayor importancia económica se sitúa hasta los 600 m sobre el nivel del mar. Las condiciones ambientales del trópico presentan características favorables para su crecimiento, desarrollo, producción y calidad de la fruta. (García, F. 2009)

3.11.2. Suelo

Los suelos deben tener una textura limo-arenosa, donde la permeabilidad y la profundidad efectiva sean parte importante de los mismos. Deben estar libres de obstáculos a fin de que las raíces puedan extenderse sin dificultad. (Valarezo, A. *et al.* 2014)

3.11.3. Temperatura

En los climas tropicales calurosos sin mayor variación de temperatura, los frutos son menos ácidos y en algunos casos el color no se desarrolla satisfactoriamente. Se considera que una temperatura media entre 16° y 20 °C es óptima para el buen desarrollo de los cítricos (23° y 29 °C para la naranja). En temperaturas elevadas, como ocurre en el Litoral ecuatoriano, dan como resultado una rápida degradación de la acidez y de un pobre desarrollo del color, mientras que los niveles de grados brix son más bajos que en zonas con temperaturas más bajas. (Baraona, M. 2000)

3.11.4. Precipitación

Las necesidades hídricas de los cítricos no solo dependen de la cantidad total de las lluvias, sino también de su distribución y de la abundancia de las precipitaciones mensuales y más de la temperatura, que es el factor principal de la evapotranspiración. Los valores óptimos debe estar comprendidos entre 1000 y 1200 mm, anuales; no obstante en las regiones muy cálidas el nivel de precipitación anual pudiera situarse alrededor de los 1400 mm. (Avilan, L. 2010)

3.11.5. Humedad relativa

La humedad relativa influye sobre la calidad de la fruta. La naranja en regiones donde la humedad relativa es alta tiende a tener cáscara delgada y suave, mayor cantidad de jugo y es de mejor calidad. La baja humedad favorece una mejor coloración de la fruta. El rango adecuado de humedad relativa puede considerarse entre 60 y 70%. (Aguilar, A. s.f.)

3.11.6. Viento

Los vientos cálidos aumentan la transpiración, llegando incluso a deshidratar hojas y frutos, además de causar daño mecánico a todo el árbol. En zonas ventosas deben establecerse cortinas rompe vientos. Se considera que una velocidad entre 15 y 20 km/h es beneficiosa para la aireación del árbol y la fecundación. (Baraona, M. 2000)

IV. MARCO METODOLÓGICO

4.1. Materiales

4.1.1. Localización de la investigación

Provincia	Bolívar
Cantón	Guaranda
Parroquia	Veintimilla
Sitio	Laguacoto II

Dirección: Km 1.5 m. Vía a Guaranda a San Simón

4.1.2. Situación climática y geográfica

Localidad	Laguacoto II
Altitud	2622 msnm
Latitud	01° 36' 88'' S
Longitud	78° 59' 88'' W
Temperatura media anual	14.5 °C

Temperatura máxima	23 °C
Temperatura mínima	2 °C
Precipitación media anual	880 mm
Heliofania	850 (h/l) año
Humedad relativa	70%

Fuente: Estación Meteorológica Laguacoto II y GPS In Situ. Guaranda 2017.

4.1.3. Zona de vida

La localidad en estudio de acuerdo a las zonas de vida de Holdrige, L, corresponden al bosque seco montano bajo (bs – MB).

4.1.4. Material experimental

Embriones maduros de cinco variedades de naranja en estado de pre maduración y tres dosis de ácido giberélico.

4.1.5. Materiales de campo

Embriones inmaduros.

Cinco variedades de naranja.

- Común
- Valencia
- Tanyellow
- Lima
- Agria

4.1.6. Materiales de laboratorio

- Ácido giberélico
- Agitador magnético
- Autoclave

- Balanza analítica
- Cajas petri
- Cámara de flujo laminar
- Cubre cabello
- Destilador de agua
- Erlenmeyer
- Guantes
- Magenta
- Mandil
- Mascarilla
- Mecheros
- pH-metro
- Pinzas
- Pipeta
- Pizetas
- Probetas de 25 - 100 - 500 ml
- Refrigerador
- Vaso de precipitación

4.1.7. Materiales de oficina

- **Calculadora**
- **Computadora con sus respectivos accesorios**
- Lápices
- Flash memory
- Flexómetro
- Papel boom
- Paquete estadístico STATISTIX

4.2. Métodos

4.2.1. Factores en estudio

4.2.1.1. Factor A: Variedades de naranja.

A1 = Naranja Común

A2 = Naranja Valencia

A3 = Naranja Tanyellow

A4 = Naranja Lima

A5 = Naranja Agria

4.2.1.2. Factor B: Dosis de ácido giberélico.

B1= 1.0 mg/l

B2= 2.5 mg/l

B3= 4.0 mg/l

4.2.2. Tratamientos: Combinación de los factores A x B: 5 x 3 x 3 repeticiones, según el siguiente detalle:

Tratamiento	Código	Detalle
T1	A1B1	N. Común + 1.0 mg (A.G)
T2	A1B2	N. Común + 2.5 mg (A.G)
T3	A1B3	N. Común + 4.0 mg (A.G)
T4	A2B1	N. Valencia + 1.0 mg (A.G)
T5	A2B2	N. Valencia + 2.5 mg (A.G)
T6	A2B3	N. Valencia + 4.0 mg (A.G)
T7	A3B1	N. Tanyellow + 1.0 mg (A.G)
T8	A3B2	N. Tanyellow + 2.5 mg (A.G)
T9	A3B3	N. Tanyellow + 4.0 mg (A.G)
T10	A4B1	N. Lima + 1.0 mg (A.G)
T11	A4B2	N. Lima + 2.5 mg (A.G)
T12	A4B3	N. Lima + 4.0 mg (A.G)
T13	A5B1	N. Agria + 1.0 mg (A.G)
T14	A5B2	N. Agria + 2.5 mg (A.G)

T15	A5B3	N. Agria + 4.0 mg (A.G)
-----	------	-------------------------

4.2.3. Procedimiento

Tipo de diseño: Bloques Completamente al Azar (DBCA). Factorial de 5 x 3 x 3 repeticiones.

N° de localidades	1
N° de tratamientos	15
N° de repeticiones	3
N° de unidades experimentales	45
Numero de semillas por unidad experimental	2
Número total de semillas	90

4.2.5. Tipo de análisis

- Análisis de varianza (ADEVA) según el siguiente detalle:

Fuentes de variación	Grados de libertad	C.M.E*
Bloques (r-1)	2	$f^2 e + 15 f^2 \text{ bloques}$
Factor A Variedades (a-1)	4	$f^2 e + 9 \theta^2 A$
Factor B Acido giberélico (b-1)	2	$f^2 e + 15 \theta^2 B$
A x B (a-1)(b-1)	8	$f^2 e + 3 \theta^2 A x B$
Error Experimental (axb-1)(r-1)	28	$f^2 e$
TOTAL (axbxr)-1	44	

*Cuadrados Medios Esperados. Modelo fijo. Tratamientos seleccionados por el investigador.

- Prueba de Tukey al 5% para comparar media de tratamientos del FA y FB.
- Análisis de correlación y regresión simple.
- Análisis de la relación beneficio/costo (B/C).

4.3. Métodos de evaluación y datos tomados

4.3.1. Días a la germinación (DG)

Esta variable se registró contando los días desde la siembra hasta cuando el 70% de las semillas germinaron en todos los tratamientos.

4.3.2. Porcentaje de semillas germinadas (PSG)

Dato que se registró a los 21 días después de la siembra contando las plantas emergidas de acuerdo con el número de semillas sembradas en cada tratamiento y se expresó en porcentaje.

4.3.3. Número de magentas contaminados (NMC)

Variable que se registró mediante conteo directo a partir de las 48 horas después de la siembra, tomando en cuenta que no hubiese contaminación en todos los tratamientos.

4.3.4. Número de explantes por embriones (NEE)

Se contabilizó de manera directa el número de explantes por embriones a los 45 días de haber sembrado en todos los tratamientos.

4.3.5. Longitud del explante (LE)

Dato que se midió en cm en tres explantes, a los 45 y 90 días, con la ayuda de un flexómetro.

4.3.6. Número de hojas por explante (NHE)

Esta variable se registró por conteo directo cuando los explantes obtuvieron las hojas verdaderas, en todos los tratamientos.

4.3.7. Días a transferir a un medio de multiplicación (DTMM)

Variable que se registró contando los días desde la siembra hasta cuando los explantes estuvieron óptimos para ser transferidos al medio de multiplicación en todos los tratamientos después de haber realizado la siembra.

4.3.8. Días al medio de enraizamiento (DME)

Esta variable se registró contando los días desde la siembra hasta cuando los explantes obtuvieron tres raicillas en todos los tratamientos.

4.3.9. Días a la emisión de raíces (DER)

Se contaron los días desde cuando los explantes comenzaron a emitir las primeras radículas, hasta obtener un sistema radicular que les permitió absorber por si sola los nutrientes.

4.3.10. Volumen de raíz (VR)

Variable que se registró sumergiendo la raíz del explante en una probeta de 25 ml aforada con agua y por diferencia de valores se obtuvo el volumen de la raíz, se expresó en ml.

4.3.11. Días a la transferencia a condiciones medioambientales externas (DTCME)

Variable que se registró contando los días desde la siembra y del proceso de multiplicación hasta cuando las plantas estuvieron listas para su transferencia a condiciones externas.

4.3.12. Porcentaje de mortalidad de las plantas al trasplante a condiciones externas (PMPTCE)

Se cuantificó en todos los tratamientos al trasplante por conteo directo y en base al número de plantas trasplantadas y a la mortalidad de las mismas, se expresó en porcentaje.

4.3.13. Longitud de la hoja (LH)

Variable que se evaluó en 15 plantas, midiendo desde el punto de inserción de la hoja hasta el ápice con la ayuda de un flexómetro se expresó en cm, a los 185 días de su transferencia a condiciones externas.

4.3.14. Ancho de la hoja (AH)

Variable que se registró en 15 plantas en cm con la ayuda de un flexómetro en la parte media de la hoja cuando fueron transferidas a condiciones externas.

4.3.15. Diámetro del tallo (DT)

Esta variable se determinó en 15 plantas cuando se transfirió a condiciones externas, en la parte media del tallo utilizando un calibrador de Vernier, en mm.

4.3.16. Diámetro del pecíolo (DP)

Se procedió a medir en mm, utilizando un calibrador de Vernier en la parte media del pecíolo en 15 plantas, una vez que fueron transferidas a condiciones externas.

4.3.17. Altura de planta (AP)

Variable que se registró cuando la plántula fue transferida a condiciones externas, con la ayuda de un flexómetro, se midió desde la base del tallo hasta el meristema terminal, en 15 plantas y sus datos fueron expresados en cm.

4.3.18. Número de entrenudos (NEN)

Esta variable se tomó en 15 plantas, por conteo directo cuando las plántulas fueron transferidas a condiciones externas.

4.3.19. Longitud de entrenudos (LEN)

Dato que se evaluó en 15 plantas, con la ayuda de un flexómetro en cm, desde la emergencia del tallo principal hasta los nudos vegetativos de las plantas a condiciones externas.

4.4. Manejo del experimento

4.4.1. Elaboración del medio de cultivo

Para su preparación se realizó el siguiente procedimiento:

- Se colocó en un vaso de precipitación con agua destilada en una tercera parte del volumen final a prepararse.
- Se pesó 30 g de azúcar, 7 g de agar y otros componentes en estado sólido. El azúcar se añade en ese momento, mientras que el agar se deja para el final.
- Se añadió las soluciones madres, vitaminas y reguladores de crecimiento (ácido giberélico) en tres concentraciones 1.0, 2.5 y 4.0 mg/l. De cada solución se deben tomar cantidades exactas.

SOLUCIONES CONCENTRADAS	cc/l
STOCK N.-1	100
STOCK N.-2	10
STOCK N.-3	10
VITAMINAS	10

- Se pesó o se midió los reguladores de crecimiento que vayan a ser utilizados y diluirlos adecuadamente según el tipo. Ya disuelto añadimos a la solución.
- Aforar el contenido utilizando agua destilada y ajustar al volumen total.
- Se midió el pH de la solución y se ajustó al pH deseado, esto depende de la especie vegetal a micro propagarse.
- Se puso a calentar el medio preparado luego se añadió el agar.
- Se colocó en los frascos de vidrio o magentas.
- Se esterilizó el medio preparado en la autoclave a 121°C durante 20 minutos.

Se sacó de la autoclave los frascos o magentas en una bandeja metálica y se dejó enfriar en el área de transferencia.

4.4.2. Soluciones madres según Murashige y Skoog

Constituyente	Concentración de la solución madre (g/l)	Volumen de la solución madre por litro de medio
Macros	16.5	

NH ₄ NO ₃	16.5	10 ml
KNO ₃	19	
CaCl ₂	4.4	
MgSO ₄	3.7	
KH ₂ PO ₄	1.7	
Micros		
MnSO ₄	1,69	
ZnSO ₄	0.86	
H ₃ BO ₃	0,62	
KI	0.083	
Na ₂ MoO ₄	0.025	
Fuente de hierro		10 ml
FeSO ₄	0.00556	
Na ₂ EDTA	0.00746	
Vitaminas		10 ml
Inosito	10	
Nicotínico	0.05	
Piridoxina	0.05	
Glicina	0.2	
Tiamina	0.01	

4.4.3. Selección de plantas para recolección de frutos

Las plantas fueron seleccionadas de acuerdo a las condiciones en las que se encuentre, para esta práctica se necesita plántulas vigorosas y con un buen manejo fitosanitario en condiciones ambientales favorables para su desarrollo y formación de frutos.

4.4.4. Selección de frutos en la planta

Los frutos fueron seleccionados de las mejores plantas siendo estos de buena forma, tamaño color y consistencia, esto se debe realizar en las primeras horas del día. Las naranjas se recolectaron en su estado inmaduro, para ser llevadas al laboratorio.

4.4.5. Selección de frutos maduros

Los frutos seleccionados fueron los que presentaron las mejores formas y consistencia. De acuerdo a su estado de inmadurez ya que la fruta debe mantenerse en condiciones de poca luz, bajas temperaturas y alta humedad relativa.

4.4.6. Desinfección del fruto

Los frutos se lavaron en una solución jabonosa y se enjuagaron con agua corriente dos veces, posteriormente se colocó en una solución de blanqueador comercial durante 15 min, seguido de un baño en alcohol etílico 95° por 10 min, finalmente se ubicó cuidadosamente en un recipiente.

4.4.7. Desinfección del fruto en el laboratorio

- Se mantuvo el material en un ambiente aséptico, donde se sumergió por cinco minutos en etanol al 70%.
- Se sumergió el material biológico en hipoclorito de calcio al 40% durante 10 minutos para eliminar los microorganismos. El tiempo de desinfección es importante ya que si es prolongado puede dañar el tejido del inóculo y si es corta los microorganismos no serán removidos.
- Se lavó el material biológico con agua destilada estéril para eliminar los agentes desinfectantes.
- En la cámara de flujo laminar se sumergió los frutos en alcohol a 95%, y se flameo en el mechero.
- Se cortó los frutos para sacar las semillas, las mismas que son removidas sus cubiertas (cáscara), y son colocados en las magentas que contienen el medio de cultivo en sus diferentes concentraciones, luego se puso a la cama de incubación donde recibió 16 horas luz.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Variables agronómicas para el factor A: Variedades de naranja

Cuadro N° 1. Resultados de la prueba de Tukey al 5% en el factor A: Variedades de naranjas: A1: Naranja Común, A2: Naranja Valencia, A3: Naranja Tanyellow, A4: Naranja Lima, A5: Naranja Agria en las variables: Días a la germinación (DG), Porcentaje de semillas germinadas (PSG), Número de magentas contaminadas (NMC), Número de explantes por embriones (NEE), Longitud del explante (LE) (45 y 90 días), Número de hojas por explante (NHE), Días a transferir a un medio de multiplicación (DTMM), Días al medio de enraizamiento (DME), Días a la emisión de raíces (DER), Volumen de raíz (VR), Días a la transferencia a condiciones medioambientales externas (DTCME), Porcentaje de mortalidad de las plantas al trasplante a condiciones externas (PMPTCE), Longitud de la hoja (LH), Ancho de la hoja (AH), Diámetro del tallo (DT), Diámetro del pecíolo (DP), Altura de planta (AP), Número de entrenudos (NEN) y Longitud de entrenudos (LEN), (Guaranda. 2017).

PROMEDIOS							
Factor A: Variedades de naranja							
Variables	A1: N. Común; A2: N. Valencia; A3: N. Tangellow; A4: N. Lima; A5: N. Agria					Media General	CV%
Fase de laboratorio							
DG (NS)	A1	A2	A3	A4	A5	21 días	0.0
	21 A	21 A	21 A	21 A	21 A		

PSG (NS)	A1	A2	A3	A4	A5	100%	0.0
	100 A	100 A	100 A	100 A	100 A		
NMC (NS)	A1	A2	A3	A4	A5	0	0.0
	0 A	0 A	0 A	0 A	0 A		
NEE (**)	A3	A1	A2	A4	A5	2 explantes	18.96
	3 A	3 B	2 B	2 B	1 C		
LE 45 (**)	A5	A3	A2	A1	A4	2.67 cm	9.63
	3.16 A	2.78 B	2.70 B	2.49 BC	2.24 C		
LE 90 (**)	A5	A3	A2	A1	A4	3.56 cm	8.30
	4.11 A	3.72 AB	3.62 BC	3.32 CD	3.04 D		
NHE (**)	A3	A1	A4	A2	A5	3 hojas	18.03
	4 A	3 B	2 B	2 B	2 B		
DTMM (NS)	A1	A2	A3	A4	A5	45 días	0.00
	45 A	45 A	45 A	45 A	45 A		
Fase de campo							
DME (NS)	A1	A2	A3	A4	A5	125 días	0.0
	125 A	125 A	125 A	125 A	125 A		
DER (NS)	A1	A2	A3	A4	A5	160 días	0.0
	160 A	160 A	160 A	160 A	160 A		
VR (NS)	A1	A2	A4	A3	A5	0.94 ml	13.07
	0.98 A	0.97 A	0.93 A	0.93 A	0.88 A		
DTCME (NS)	A1	A2	A3	A4	A5	181 días	0.0
	181 A	181 A	181 A	181 A	181 A		

PMPTCE (NS)	A1	A2	A3	A4	A5	0%	0.00
	0 A	0 A	0 A	0 A	0 A		
LH (**)	A2	A5	A3	A4	A1	1.77 cm	18.53
	2.17 A	2.13 A	2.03 A	1.29 B	1.23 B		
AH (**)	A3	A5	A1	A4	A2	1.03 cm	16.75
	1.33 A	1.12 AB	1.00 BC	0.89 BC	0.80 C		
DT (**)	A3	A1	A2	A4	A5	1.41 mm	6.74
	1.71 A	1.62 AB	1.55 B	1.37 C	0.78 C		
DP (**)	A4	A1	A2	A5	A3	1.70 mm	12.51
	2.50 A	1.53 B	1.52 B	1.49 B	1.47 B		
AP (NS)	A3	A5	A1	A4	A2	6.21 cm	11.24
	6.40 A	6.39 A	6.26 A	6.13 A	5.89 A		
NEN (**)	A3	A5	A1	A4	A2	10 entrenados	11.97
	11 A	10 A	10 A	9 AB	8 B		
LEN (**)	A4	A5	A3	A2	A1	1.91 cm	18.17
	2.81 A	2.08 B	1.81 BC	1.48 C	1.39 C		

Fuente: Investigación en el laboratorio y en el campo 2017.

NS = No significativo, ** = Altamente significativo.

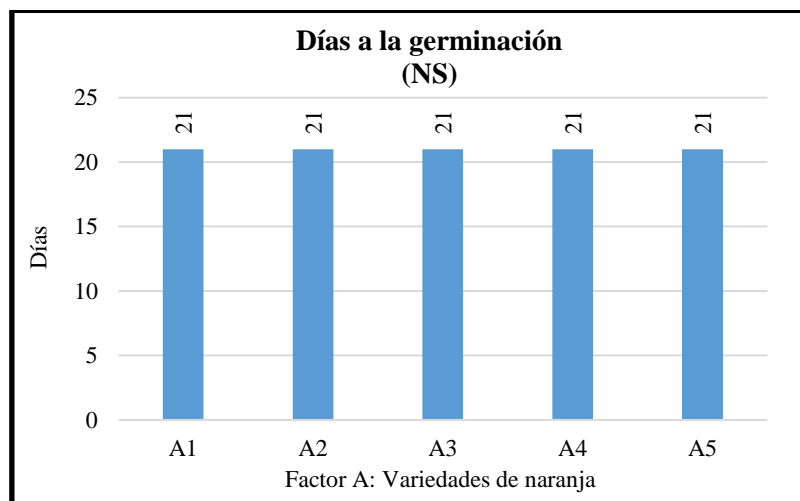
Promedios con la misma letra, son estadísticamente iguales al 5%. Promedios con distinta letra, son estadísticamente diferentes al 5%.

La respuesta del factor A: Variedades de naranja: A1: Naranja Común, A2: Naranja Valencia, A3: Naranja Tanyellow, A4: Naranja Lima y A5: Naranja Agria fue diferente en las variables: Días a la germinación (DG), Porcentaje de semillas germinadas (PSG), Número de magentas contaminadas (NMC), Días a transferir a un medio de multiplicación (DTMM), Días al medio de enraizamiento (DME), Días a la emisión de raíces (DER), Volumen de raíz (VR), Días a la transferencia a condiciones medioambientales externas (DTCME), Porcentaje de mortalidad de las plantas al trasplante a condiciones externas (PMPTCE), Altura de planta (AP), fue no significativa (NS), (Cuadro N° 1).

Las variables: Número de explantes por embriones (NEE), Longitud del explante (LE) (45 y 90 días), Número de hojas por explante (NHE), Longitud de la hoja (LH), Ancho de la hoja (AH), Diámetro del tallo (DT), Diámetro del pecíolo (DP), Número de entrenudos (NEN) y Longitud de entrenudos (LEN), fueron altamente significativas (**), (Cuadro N° 1).

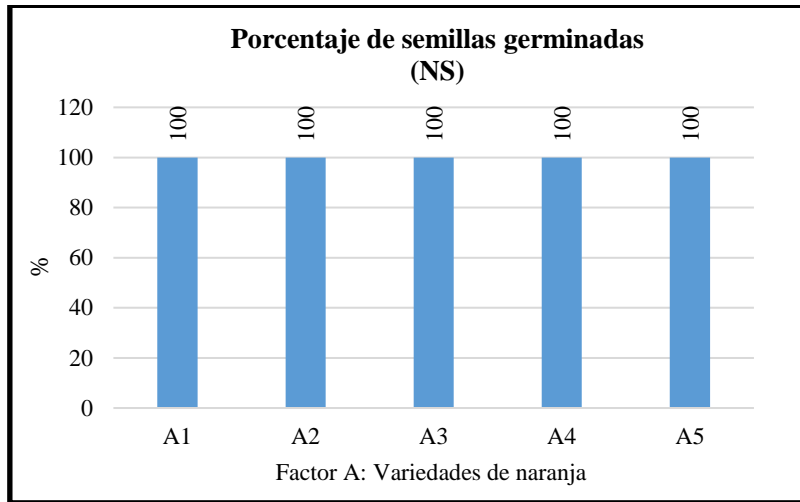
5.1.1. Variables registradas en el laboratorio

Gráfico N° 1. Días a la germinación



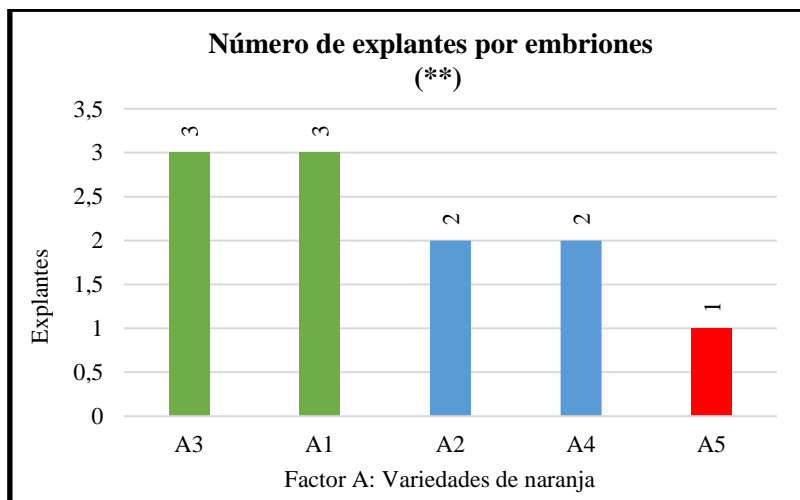
En días a la germinación, de acuerdo a la prueba de Tukey al 5% fue no significativa, todas las variedades tuvieron una respuesta similar de 21 días, es decir las variedades fueron factores independientes en esta variable, (Cuadro N° 1).

Gráfico N° 2. Porcentaje de semillas germinadas



En la variable porcentaje de semillas germinadas, de acuerdo a la prueba de Tukey al 5% fue no significativa; no existió diferencia estadística ni numérica, porque todas las semillas germinaron en un 100%, (Cuadro N° 1).

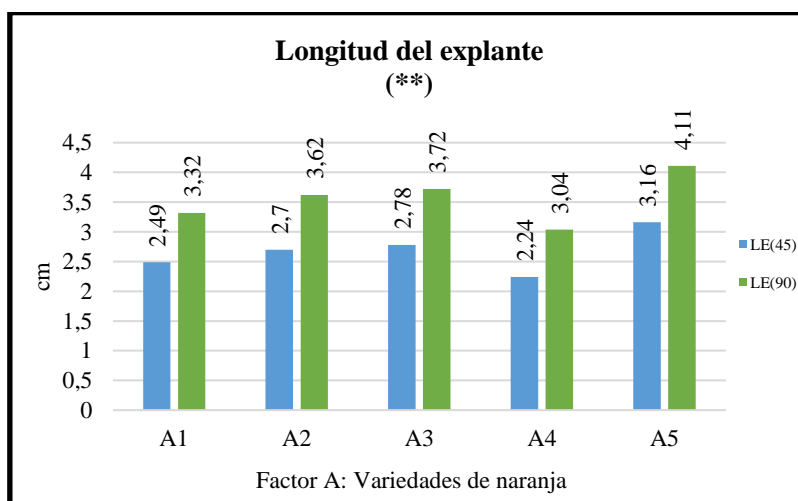
Gráfico N° 3. Promedios número de explantes por embriones



La variable número de explantes por embriones, de acuerdo a la prueba de Tukey al 5% fue altamente significativa; el mayor número de explantes se obtuvo en A3: Naranja Tanyellow y A1: Naranja Común con 3 explantes, y el menor número se obtuvo en A5: Naranja Agria con 1 explante respectivamente. Una media general de 2 explantes y un coeficiente de variación de 18.96%, (Cuadro N° 1).

La respuesta a esta variable es porque a pesar de que se utilizó el mismo medio y bajo condiciones medioambientales controladas es debido a la capacidad genética de la variedad.

Gráfico N° 4. Promedios de longitud del explante (45 y 90 días)

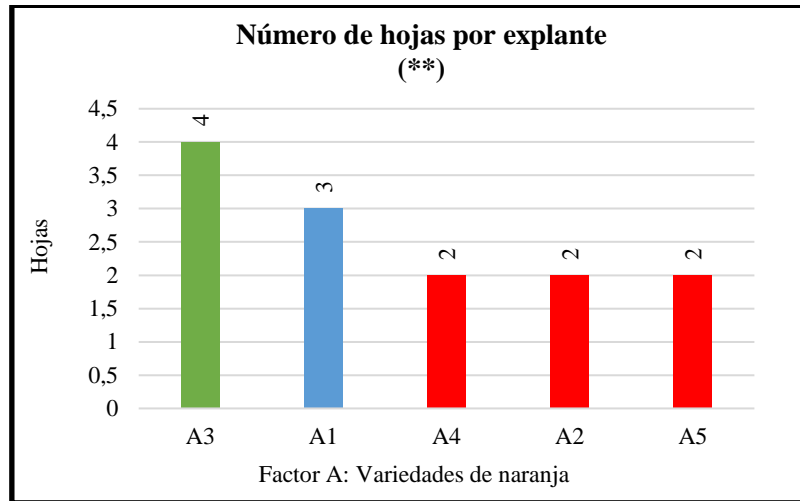


Longitud del explante a los 45 días, de acuerdo a la prueba de Tukey al 5% fue altamente significativa; la mayor longitud se obtuvo en A5: Naranja Agria con 3.16 cm, la menor longitud se obtuvo en A4: Naranja Lima con 2.24 cm. Con una media general de 2.67 cm, y un coeficiente de variación de 9.63%, (Cuadro N° 1).

La longitud del explante a los 90 días, de acuerdo a la prueba de Tukey al 5% fue altamente significativa; la mayor longitud se obtuvo en A5: Naranja Agria con 4.11 cm, y la menor longitud se registró en A4: Naranja Lima con 3.04 cm, presentándose una media general de 3.56 cm, y un coeficiente de variación de 8.30%, (Cuadro N° 1).

La respuesta a estas variables es por cuanto utilizamos embriones inmaduros de las diferentes variedades y la respuesta depende principalmente a que cada órgano, tejido o célula es diferente para cada uno de ellos.

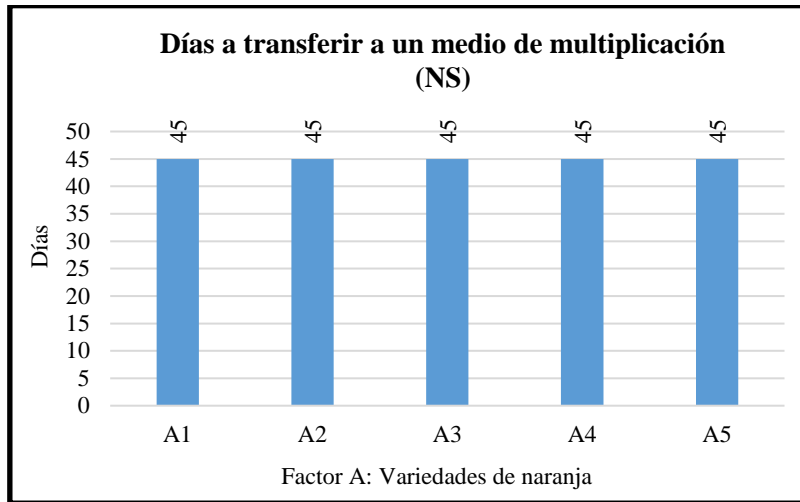
Gráfico N° 5. Promedios de número de hojas por explante



La variable número de hojas por explante, de acuerdo a la prueba de Tukey al 5% fue altamente significativa; el mayor número de hojas se obtuvo en A3: Naranja Tanyellow con 4 hojas, y el menor número se registró en A4: Naranja Lima, A2: Naranja Valencia y A5: Naranja Agria con 2 hojas respectivamente, con una media general de 3 hojas, y un coeficiente de variación de 18.03%, (Cuadro N° 1).

La respuesta a esta variable es porque a pesar de que se utilizó el mismo medio y bajo condiciones medioambientales controladas es debido a la capacidad genética de la variedad.

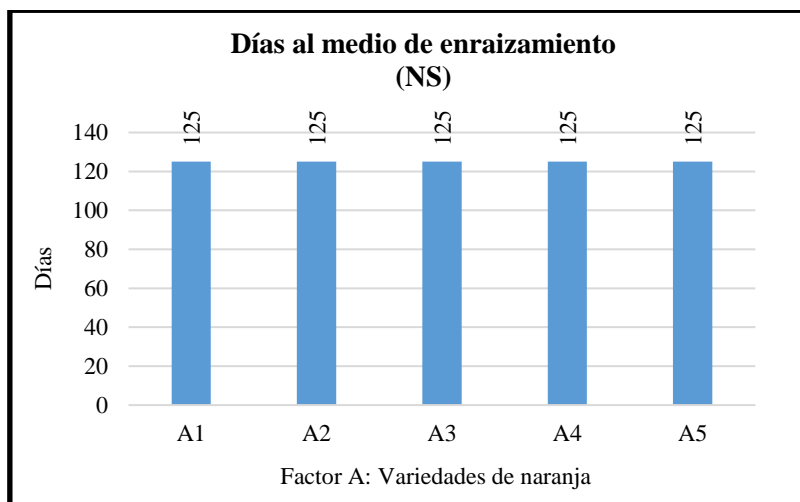
Gráfico N° 6. Días a transferir a un medio de multiplicación



La variable días a transferir a un medio de multiplicación, de acuerdo a la prueba de Tukey al 5% fue no significativa; todas las variedades se transfirieron a los 45 días, por lo tanto no existió diferencia estadística ni numérica, (Cuadro N° 1).

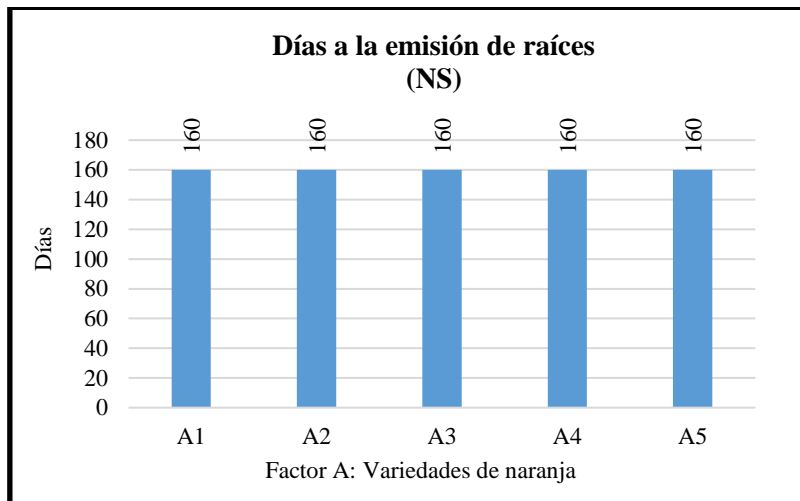
5.1.2. Variables registradas en el ambiente exterior

Gráfico N° 7. Días al medio de enraizamiento



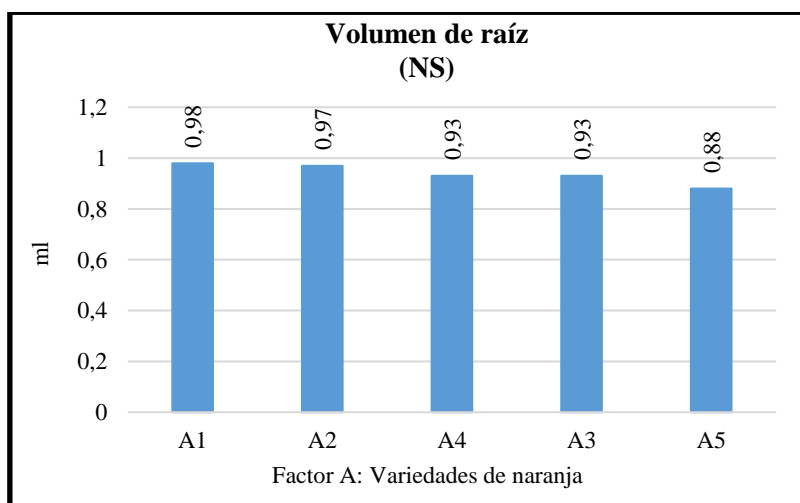
En la variable días al medio de enraizamiento, de acuerdo a la prueba de Tukey al 5% fue no significativa; todas las variedades fueron transferidas a los 125 días, por lo tanto no existió diferencia estadística, ni numérica, (Cuadro N° 1).

Gráfico N° 8. Días a la emisión de raíces



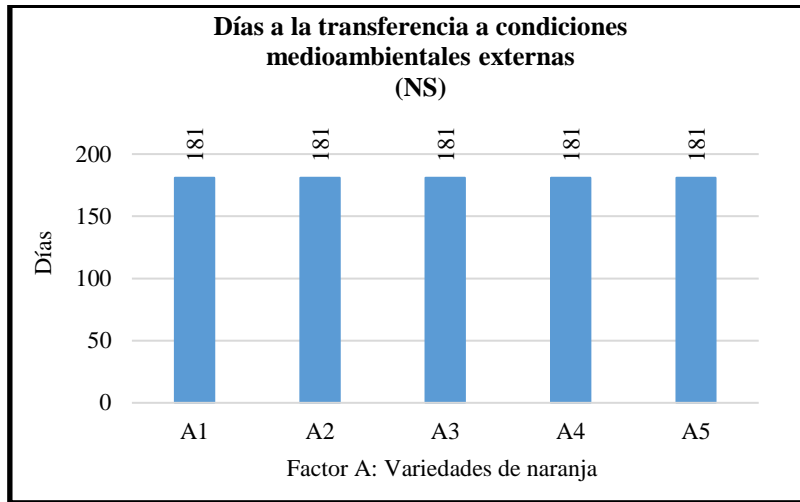
En esta investigación días a la emisión de raíces, de acuerdo a la prueba de Tukey al 5% fue no significativa; todas las variedades emitieron raíces a los 160 días, (Cuadro N° 1).

Gráfico N° 9. Promedios de volumen de raíz



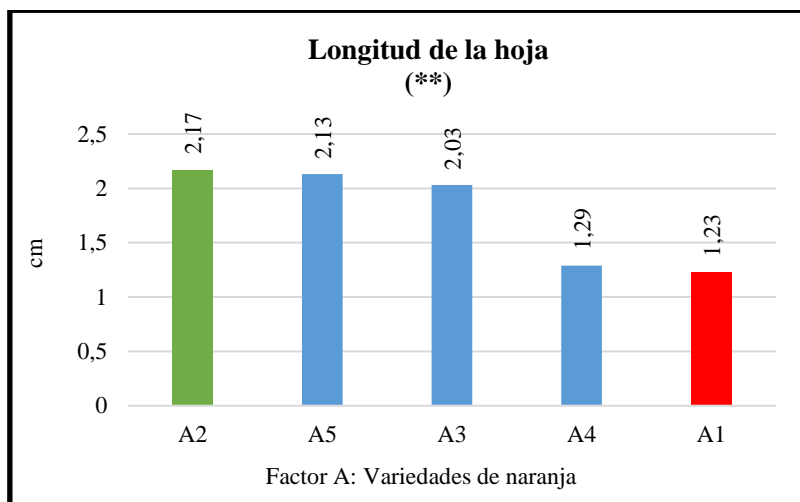
El volumen de raíz, de acuerdo a la prueba de Tukey al 5% fue no significativa; la variedad que presentó menor volumen fue A5: Naranja Agria con 0.88 ml; siendo A1: Naranja Común la variedad que registró el mayor volumen con 0.98 ml. Presentándose una media general de 0.94 ml y un coeficiente de variación de 13.07%, (Cuadro N° 1).

Gráfico N° 10. Días a la transferencia a condiciones medioambientales externas



Esta variable fue no significativa, a los 181 días se transfirieron todas las variedades a condiciones medioambientales externas, (Cuadro N° 1).

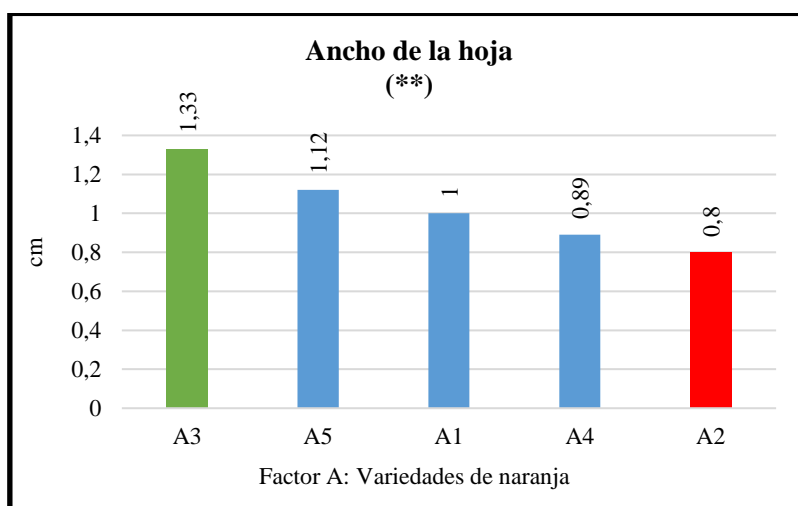
Gráfico N° 11. Promedios de longitud de la hoja



La variable longitud de la hoja, de acuerdo a la prueba de Tukey al 5% fue altamente significativa; el mayor promedio se obtuvo en A2: Naranja Valencia con 2.17 cm, y el menor promedio se registró en A1: Naranja Común con 1.23 cm; presentándose una media general de 1.77 cm y un coeficiente de variación de 18.53%, (Cuadro N° 1).

La respuesta es diferente en condiciones externas para cada variedad debido a las características genéticas que presenta cada planta. Esta característica depende de los factores ambientales y de la interacción genotipo ambiente.

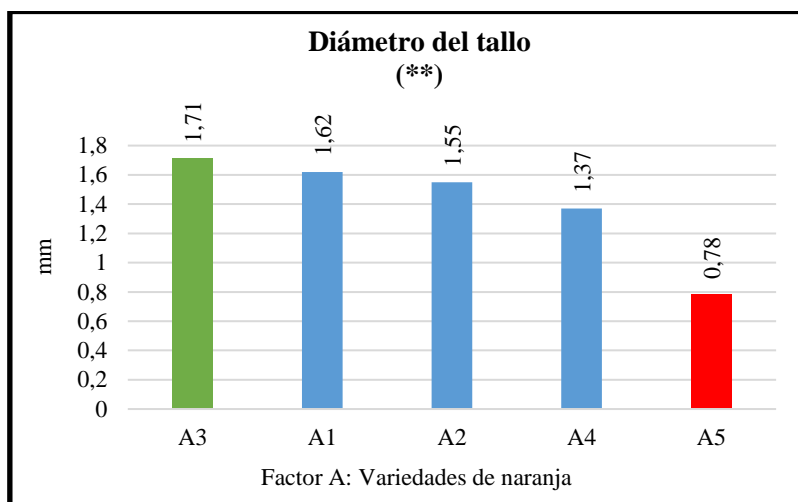
Gráfico N° 12. Promedios de ancho de la hoja



El ancho de hoja, de acuerdo a la prueba de Tukey al 5% fue altamente significativa; el mayor promedio se registró en A3: Naranja Tanyellow con 1.33 cm, el menor promedio se presentó en A2: Naranja Valencia con 0.8 cm. El promedio general fue de 1.03 cm y el coeficiente de variación de 16.75%, (Cuadro N° 1).

Esta es una característica varietal de la especie y depende de la interacción genotipo ambiente.

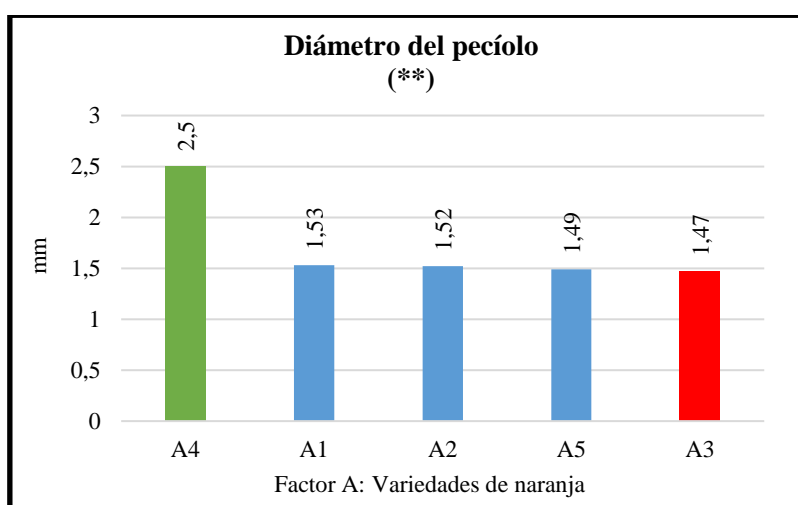
Gráfico N° 13. Promedios de diámetro del tallo



El diámetro de tallo, de acuerdo a la prueba de Tukey al 5% fue altamente significativa; el promedio más alto se registró en A3: Naranja Tangellow con 1.71 mm de diámetro y el promedio más bajo fue en A5: Naranja agria con 0.78 mm. El promedio general fue de 1.41 mm y el coeficiente de variación de 6.74%, (Cuadro N° 1).

Esta característica es varietal y depende de la interacción genotipo ambiente.

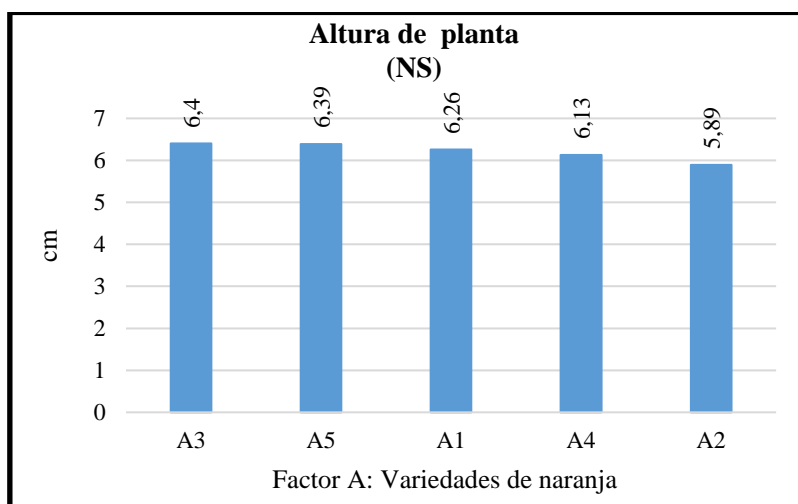
Gráfico N° 14. Promedios de diámetro del pecíolo



El diámetro del pecíolo, de acuerdo a la prueba de Tukey al 5% fue altamente significativa; el mayor diámetro se obtuvo A4: Naranja Lima con 2.5 mm y el menor diámetro en A3: Naranja Tanyellow con 1.47 mm. El promedio general fue de 1.70 mm y el coeficiente de variación de 12.51%, (Cuadro N° 1).

Bajo condiciones medioambientales controladas es debido a la capacidad genética de cada variedad.

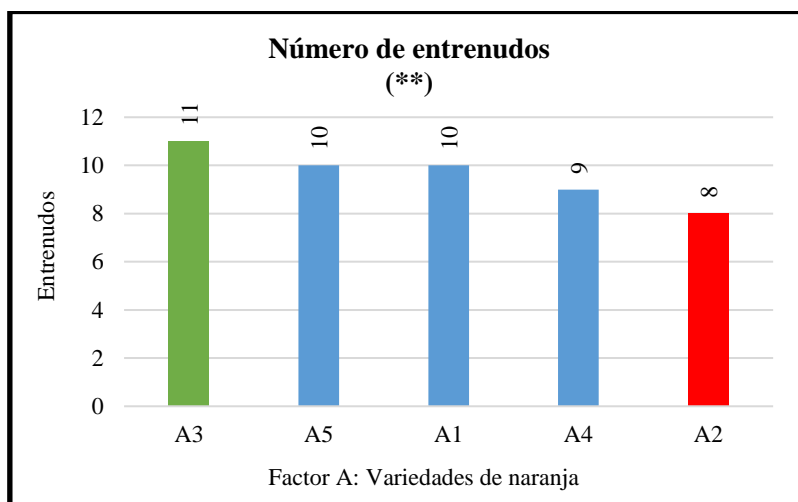
Gráfico N° 15. Promedios de altura de planta



La altura de planta, de acuerdo a la prueba de Tukey al 5% fue no significativa; es decir no hubo un efecto de las variedades; no existió diferencia estadística, pero numéricamente tuvo diferencias mínimas, (Cuadro N° 1).

La variedad que registró menor crecimiento fue A2: Naranja Valencia con 5.89 cm, y el promedio más alto en la variedad A3: Naranja Tanyellow con 6.4 cm. El promedio general fue de 6.21 cm y el coeficiente de variación de 11.24%, (Cuadro N° 1).

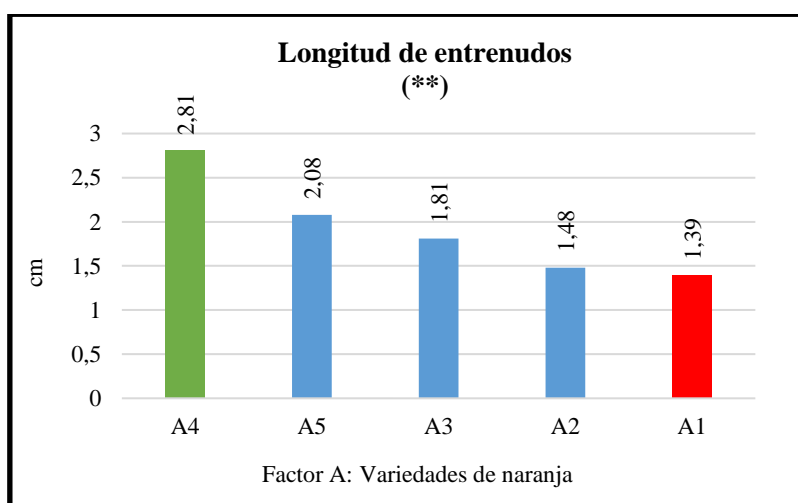
Gráfico N° 16. Promedios de número de entrenudos



La variable número de entrenudos, de acuerdo a la prueba de Tukey al 5% fue altamente significativa; el mayor número se registró A3: Naranja Tanyellow con 11 entrenudos, mientras que el menor promedio se presentó en A2: Naranja Valencia con 8 entrenudos. El promedio general fue de 10 entrenudos por planta, y el coeficiente de variación de 11.97%, (Cuadro N° 1).

Esta variable es una característica varietal, debido a que una variedad tiene mejores características genéticas que las otras.

Gráfico N° 17. Promedios de longitud de entrenudos



La variable longitud de entrenudos, de acuerdo a la prueba de Tukey al 5% fue altamente significativa; la mayor longitud se obtuvo en A4: Naranja Lima con 2.81 cm, mientras que la menor longitud se presentó en A1: Naranja Común con 1.39 cm y un promedio general de 1.91 cm, y un coeficiente de variación de 18.17%, (Cuadro N° 1).

Estos resultados se deben a las características varietales de cada especie.

5.2. Variables agronómicas de factor B: Dosis de ácido giberélico

Cuadro N° 2. Resultados de la prueba de Tukey al 5% en el factor B: Dosis de ácido giberélico: B1: 1.0 mg/l, B2: 2.5 mg/l, B3: 4.0 mg/l, para comparar los promedios de las variables: Días a la germinación (DG), Porcentaje de semillas germinadas (PSG), Número de magentas contaminadas (NMC), Número de explantes por embriones (NEE), Longitud del explante (LE) (45 y 90 días), Número de hojas por explante (NHE), Días a transferir a un medio de multiplicación (DTMM), Días al medio de enraizamiento (DME), Días a la emisión de raíces (DER), Volumen de raíz (VR), Días a la transferencia a condiciones medioambientales externas (DTCME), Porcentaje de mortalidad de las plantas al trasplante a condiciones externas (PMPTCE), Longitud de la hoja (LH), Ancho de la hoja (AH), Diámetro del tallo (DT), Diámetro del pecíolo (DP), Altura de planta (AP), Número de entrenudos (NEN) y Longitud de entrenudos (LEN), (Guaranda. 2017).

PROMEDIOS					
Factor B: Dosis de ácido giberélico					
Variables	B1: 1.0 mg; B2: 2.5 mg; B3: 4.0 mg			Media general	CV%
Fase de laboratorio					
DG (NS)	B1 21 A	B2 21 A	B3 21 A	21 días	0.0
PSG (NS)	B1 100 A	B2 100 A	B3 100 A	100%	0.0
NMC (NS)	B1 0 A	B2 0 A	B3 0 A	0 magentas	0.0
NEE (NS)	B1 3 A	B3 2 A	B2 2 A	2 explantes	18.96
LE 45	B1	B2	B3	2.67 cm	9.63

(**)	3.07 A	2.51 B	2.43 B		
LE 90 (**)	B1 3.97 A	B2 3.40 B	B3 3.31 B	3.56 cm	8.30
NHE (**)	B1 4 A	B2 3 B	B3 2 C	3 hojas	18.03
DTMM (NS)	B1 45 A	B2 45 A	B3 45 A	45 días	0.00
Fase de campo					
DME (NS)	B1 125 A	B2 125 A	B3 125 A	125 días	0.0
DER (NS)	B1 160 A	B2 160 A	B3 160 A	160 días	0.0
VR (NS)	B3 0.97 A	B2 0.94 A	B1 0.91 A	0.94 cc	13.07
DTCME (NS)	B1 181 A	B2 181 A	B3 181 A	181 días	0.0
PMPTCE (NS)	B1 0 A	B2 0 A	B3 0 A	0%	0.00
LH (NS)	B1 1.89 A	B3 1.72 A	B2 1.71 A	1.77 cm	18.53
AH (NS)	B1 1.03 A	B2 1.02 A	B3 1.02 A	1.03 cm	16.75
DT (NS)	B3 1.41 A	B1 1.41 A	B2 1.40 A	1.41 mm	6.74
DP (NS)	B2 1.75 A	B3 1.68 A	B1 1.68 A	1.70 mm	12.51
AP (NS)	B1 6.33 A	B3 6.18 A	B2 6.13 A	6.21 cm	11.24
NEN (**)	B3 11 A	B1 10 B	B2 8 C	10 entrenudos	11.97
LEN (NS)	B3 2.02 A	B2 1.91 A	B1 1.81 A	1.91 cm	18.17

Fuente: Investigación en el laboratorio 2017.

NS = No significativo.

** = Altamente significativo.

Promedios con la misma letra, son estadísticamente iguales al 5%.

Promedios con distinta letra, son estadísticamente diferentes al 5%.

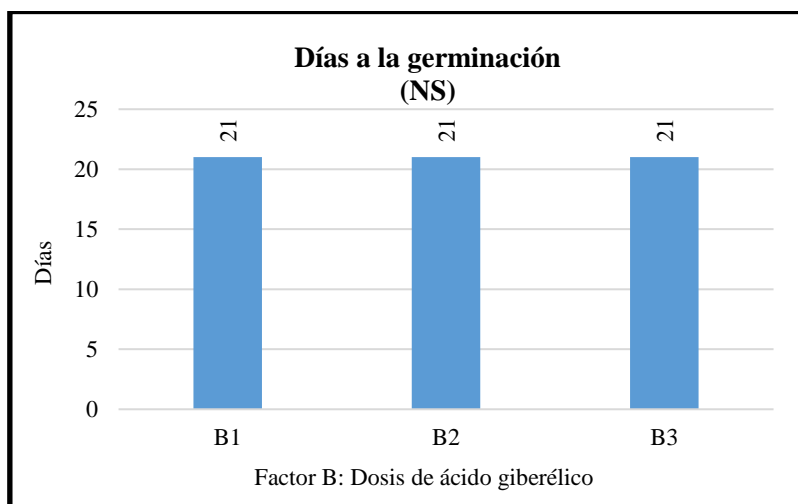
La respuesta del factor B: Dosis de ácido giberélico: B1: 1.0 mg/l, B2: 2.5 mg/l, B3: 4.0 mg/l, para comparar los promedios de las variables: Días a la germinación (DG), Porcentaje de semillas germinadas (PSG), Número de magentas contaminadas (NMC), Número de explantes por embriones (NEE), Días a transferir a un medio de

multiplicación (DTMM), Días al medio de enraizamiento (DME), Días a la emisión de raíces (DER), Volumen de raíz (VR), Días a la transferencia a condiciones medioambientales externas (DTCME), Porcentaje de mortalidad de las plantas al trasplante a condiciones externas (PMPTCE), Longitud de la hoja (LH), Ancho de la hoja (AH), Diámetro del tallo (DT), Diámetro del pecíolo (DP), Altura de planta (AP) y Longitud de entrenudos (LEN), fue no significativa (NS); ya que no hubo efecto significativo de las dosis, (Cuadro N° 2).

Las variables: Longitud del explante (LE) (45 y 90 días), Número de hojas por explante (NHE) y Número de entrenudos (NEN) fueron altamente significativas (**), (Cuadro N° 2).

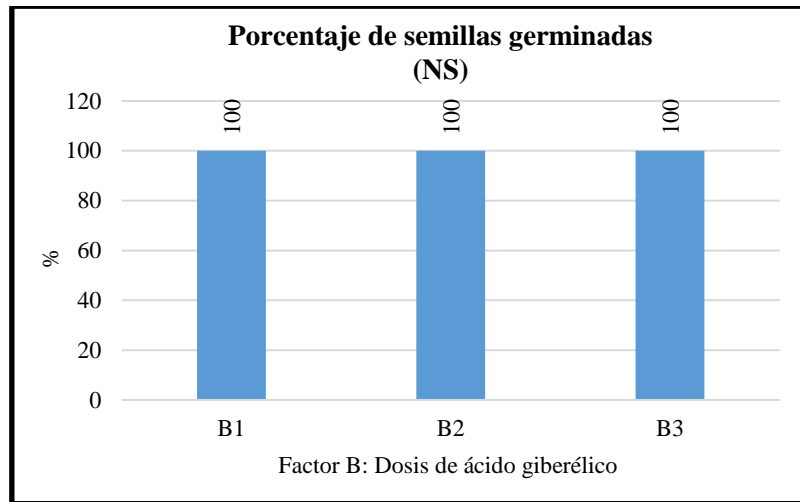
5.2.1. Variables registradas en el laboratorio

Gráfico N° 18. Días a la germinación



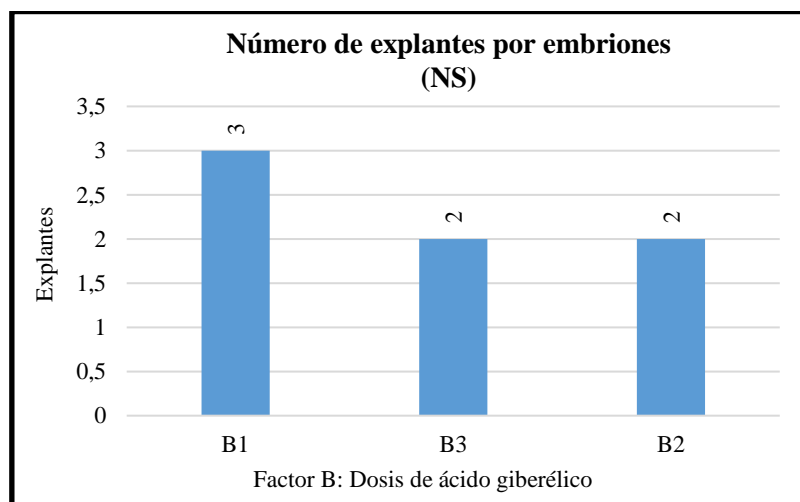
En la variable días a la germinación, las tres dosis tuvieron igual promedio de 21 días, de acuerdo a la prueba de Tukey al 5% fue no significativa; es decir las dosis de ácido giberélico fueron factores independientes en esta variable, (Cuadro N° 2).

Gráfico N° 19. Porcentaje de semillas germinadas



De acuerdo a la prueba de Tukey al 5% la variable porcentaje de semillas germinadas fue no significativa, es decir no hubo un efecto de las dosis de ácido giberélico; con las tres dosis se registró 100% de germinación, no existió diferencia estadística ni numérica, (Cuadro N° 2).

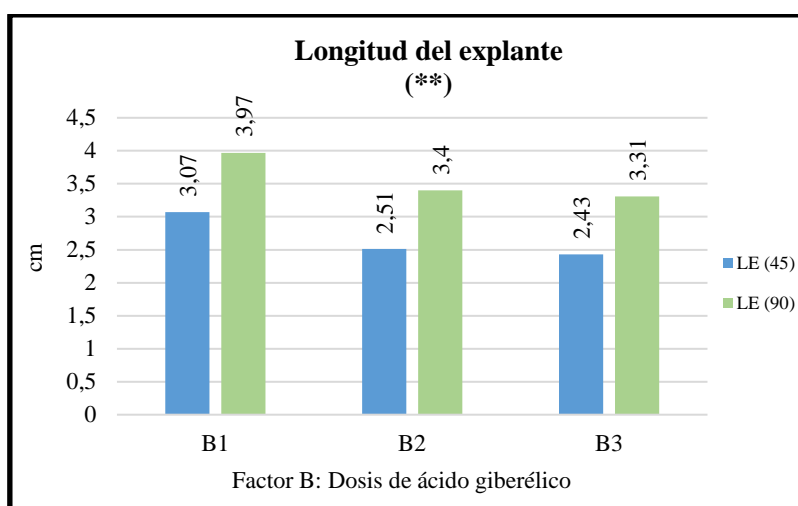
Gráfico N° 20. Promedios de Número de explantes por embriones



El número de explantes por embriones, de acuerdo a la prueba de Tukey al 5% fue no significativa; no existió diferencia estadística pero numéricamente tuvo diferencias mínimas, es decir las dosis de ácido giberélico fueron factores independientes en esta variable.

El mayor número de explantes se cuantificó en B1: 1.0 mg de ácido giberélico con 3 explantes; mientras que el menor promedio se registró en B3: 4.0 mg de ácido giberélico y B2: 2.5 mg de ácido giberélico, con 2 explantes respectivamente. Presentándose una media general de 2 explantes y un coeficiente de variación de 19.96 %, (Cuadro N° 2).

Gráfico N° 21. Promedios de longitud de explante (45 y 90 días)



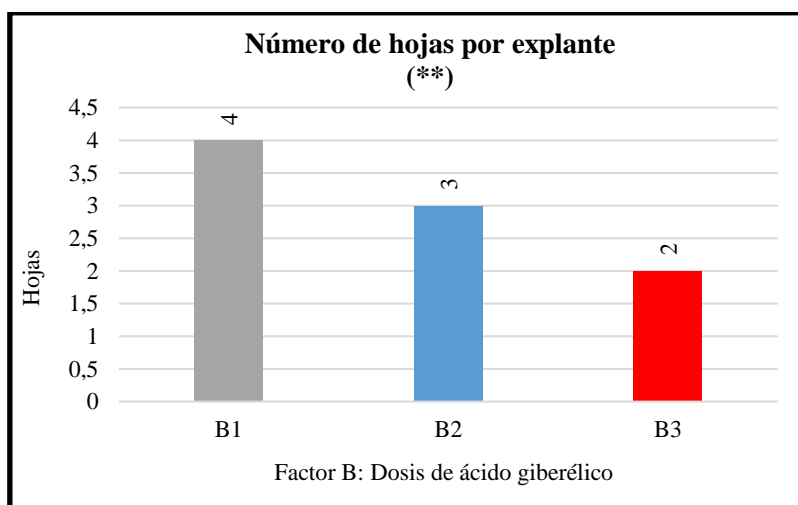
La longitud del explante a los 45 días, de acuerdo a la prueba de Tukey al 5% fue altamente significativa; la mayor longitud se obtuvo en B1: 1.0 mg con 3.07 cm, y la menor longitud se registró en B3: 4.0 mg con 2.43 cm, presentándose una media general de 2.67 cm, y un coeficiente de variación de 9.63%, (Cuadro N° 2).

La longitud del injerto a los 90 días, de acuerdo a la prueba de Tukey al 5% fue altamente significativa; la mayor longitud se obtuvo en B1: 1.0 mg con 3.97 cm, y la

menor longitud se registró en B3: 4.0 mg con 3.31 cm, presentándose una media general de 3.56 cm, y un coeficiente de variación de 8.30%, (Cuadro N° 2).

Al utilizar diferentes concentraciones de ácido giberélico 1.0, 2.5 y 4.0 mg/litro, la respuesta es diferente para cada variedad, a pesar de ser el mismo medio de cultivo utilizado en naranja.

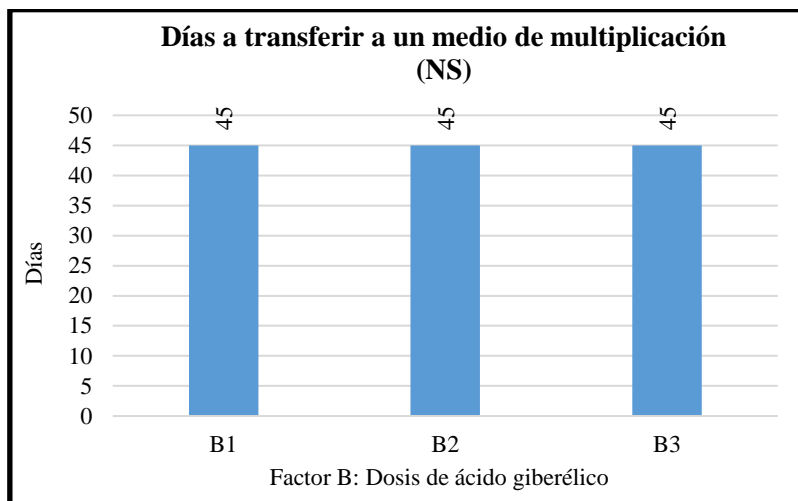
Gráfico N° 22. Promedios número de hojas por explante



De acuerdo a la prueba de Tukey al 5% la variable número de hojas **por explante**, fue altamente significativa; el mayor número de hojas se obtuvo en B1: 1.0 mg con 4 hojas, y el menor número se obtuvo en B2: 2.5 mg con 2 hojas respectivamente, con una media general de 3 hojas, y un coeficiente de variación de 18.03%, (Cuadro N° 2).

La respuesta a esta variable es por cuanto se utilizó embriones inmaduros de las diferentes variedades y la respuesta depende principalmente a que cada órgano, tejido o célula es diferente para cada uno de ellos.

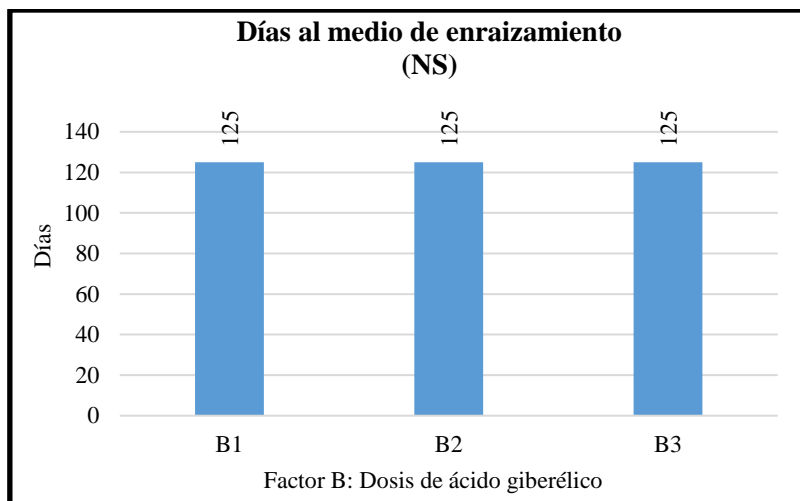
Gráfico N° 23. Días a transferir a un medio de multiplicación



La respuesta de las dosis de ácido giberélico en la variable días a transferir a un medio de multiplicación, de acuerdo a la prueba de Tukey al 5% fue no significativa, no existió diferencia estadística ni numéricas, se transfirieron a los 45 días, (Cuadro N° 2).

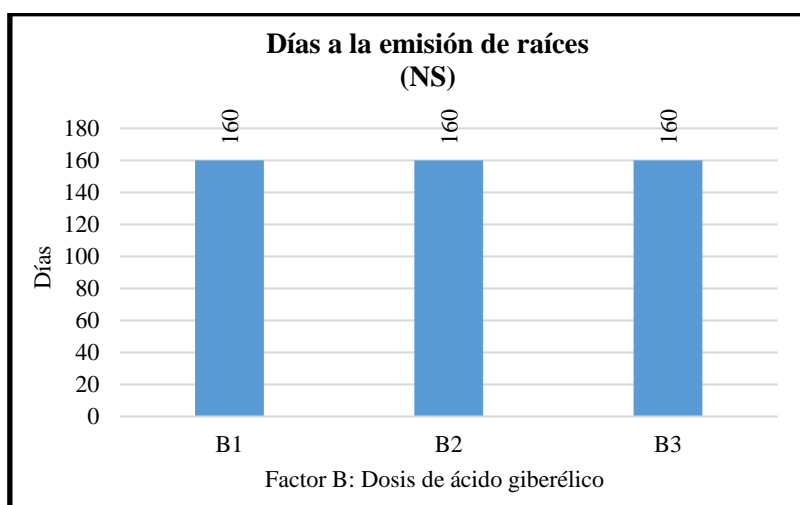
5.2.2. Variables registradas en el ambiente exterior

Gráfico N° 24. Días al medio de enraizamiento



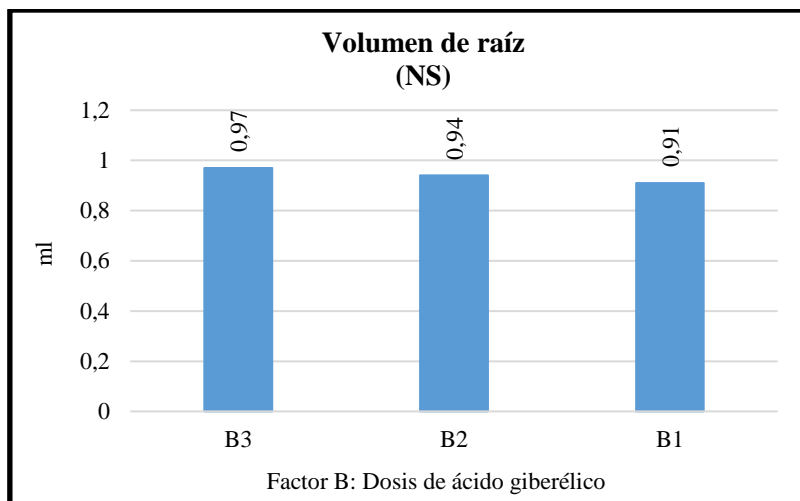
La variable días al medio de enraizamiento, fue no significativa las dosis tuvieron una respuesta similar de 125 días, no existió diferencia estadística ni numérica, por tanto no hubo ninguna diferencia, (Cuadro N° 2).

Gráfico N° 25. Días a la emisión de raíces



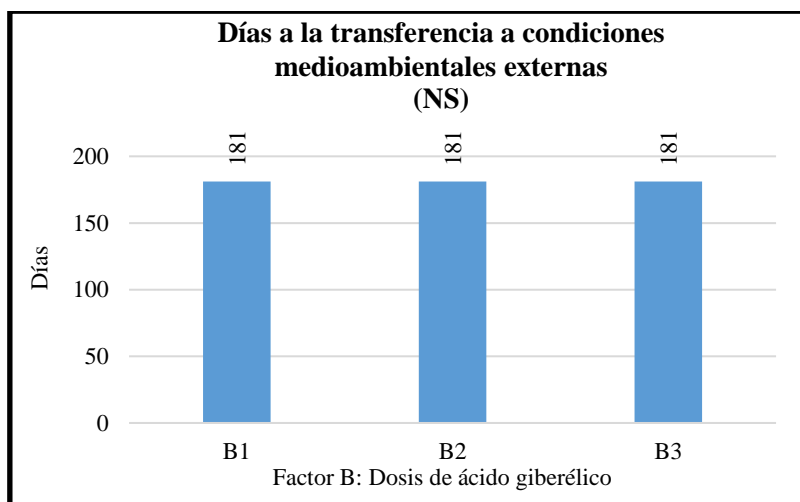
En la variable días a la emisión de raíces, con las tres dosis de ácido giberélico se registró la emisión a los 160 días, por lo cuanto no existió diferencia estadística ni numérica, (Cuadro N° 2).

Gráfico N° 26. Promedios de volumen de raíz



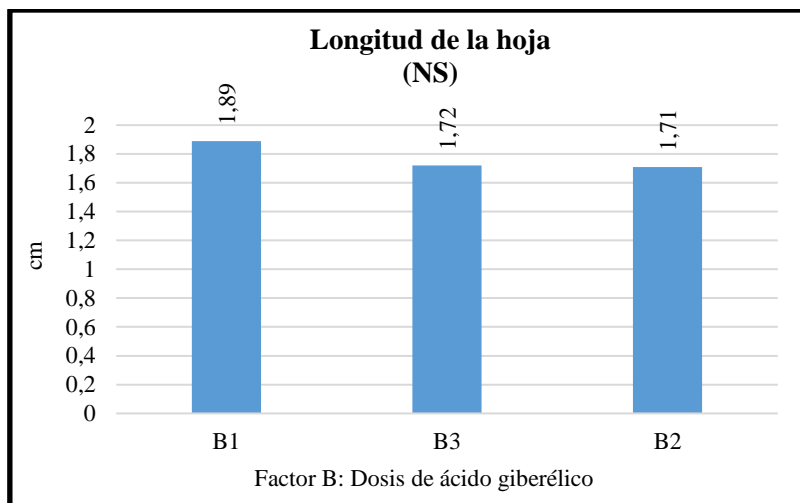
La variable volumen de raíz, fue no significativa; se registró el mayor volumen en B3: 4.0 mg con 0.97 ml, mientras el menor volumen se cuantificó en B1: 1.0 mg con 0.91 ml. Con una media general de 0.94 ml y un coeficiente de variación de 13.07%, (Cuadro N° 2).

Gráfico N° 27. Días a la transferencia a condiciones medioambientales externas



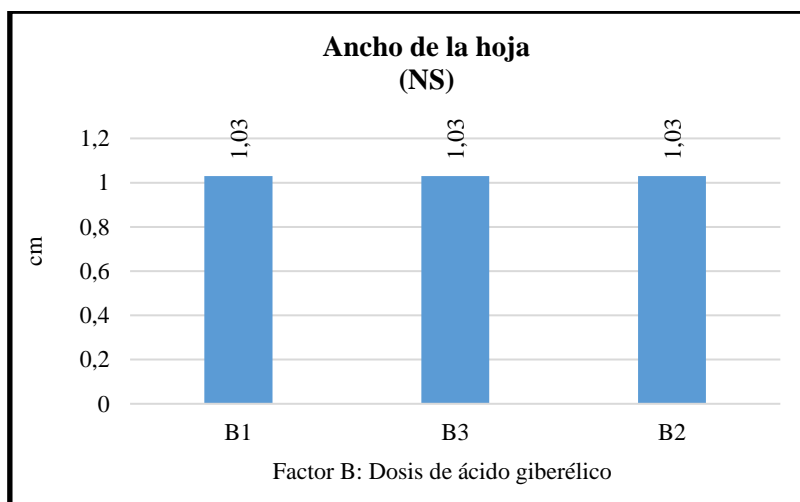
La variable días a la transferencia a condiciones medioambientales externas, de acuerdo a la prueba de Tukey al 5% fue no significativa; la transferencia se realizó a los 181 días, (Cuadro N° 2).

Gráfico N° 28. Promedios de longitud de la hoja



La variable longitud de la hoja, de acuerdo a la prueba de Tukey al 5% fue no significativa; el mayor promedio se registró en B1: 1.0 mg con 1.89 cm y el menor promedio se presentó en B2: 2.5 mg con 1.71 cm. El promedio general fue de 1.77 cm y el coeficiente de variación de 18.53%, (Cuadro N° 2).

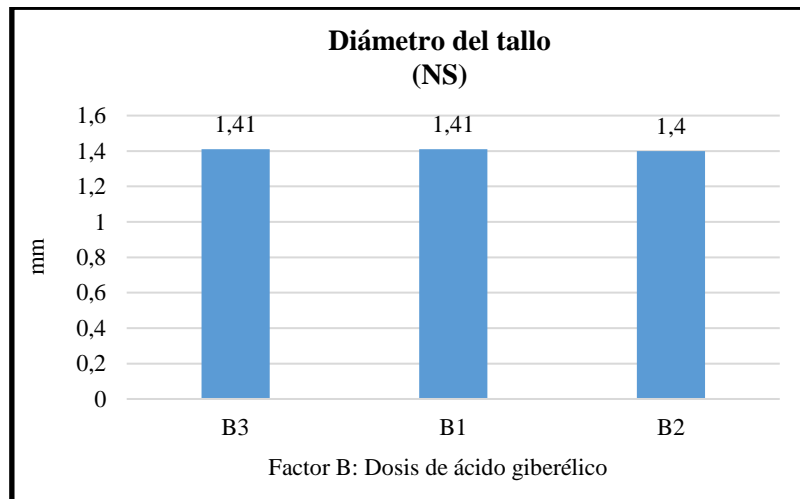
Gráfico N° 29. Promedios de ancho de la hoja



La variable ancho de la hoja, de acuerdo a la prueba de Tukey al 5% fue no significativa; los promedios fueron iguales con las tres dosis de ácido giberélico, con 1.03 cm, por cuanto no existió diferencia estadística ni numérica; es decir no hubo un efecto de las dosis de ácido giberélico.

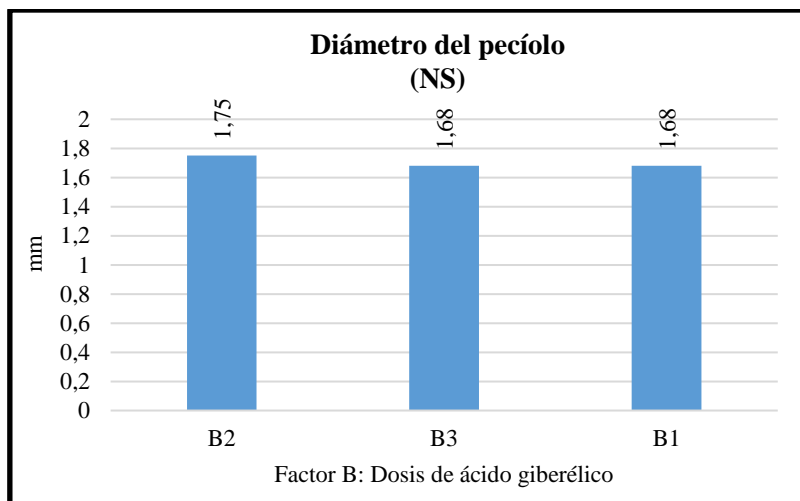
El promedio general fue de 1.03 cm, se registró un coeficiente de variación de 16.75%, (Cuadro N° 2).

Gráfico N° 30. Promedios de diámetro de tallo



El diámetro de tallo, de acuerdo a la prueba de Tukey al 5% fue no significativa; sus valores son similares numéricamente, pero estadísticamente no tienen diferencias. El mayor diámetro se obtuvo en B3: 4.0 mg y B1: 1.0 mg con 1.41 mm y el menor diámetro se presentó en B2: 2.5 mg con 1.40 mm. Con un promedio general de 1.41 mm y un coeficiente de variación de 6.74%, (Cuadro N° 2).

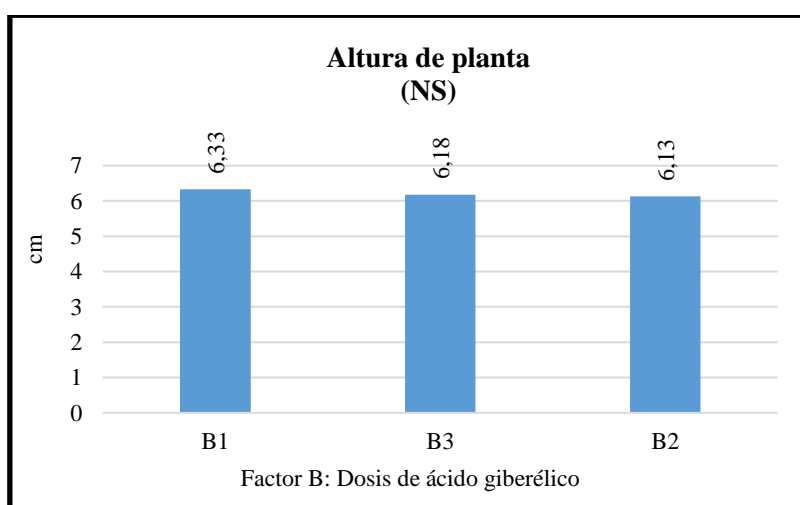
Gráfico N° 31. Promedios de diámetro de pecíolo



El diámetro del pecíolo, de acuerdo a la prueba de Tukey al 5% fue no significativa, no existió diferencia estadística pero numéricamente tuvo diferencias mínimas, es decir no hubo un efecto de las dosis de ácido giberélico.

Registrándose un mayor promedio en B2: 25 mg con 1.75 mm mientras que los menores promedios en B3: 4.0 mg y B1: 1.0 mg y B3: 4.0 mg con 1.68 mm respectivamente. Con un promedio general de 1.70 mm y un coeficiente de variación de 12.51%, (Cuadro N° 2).

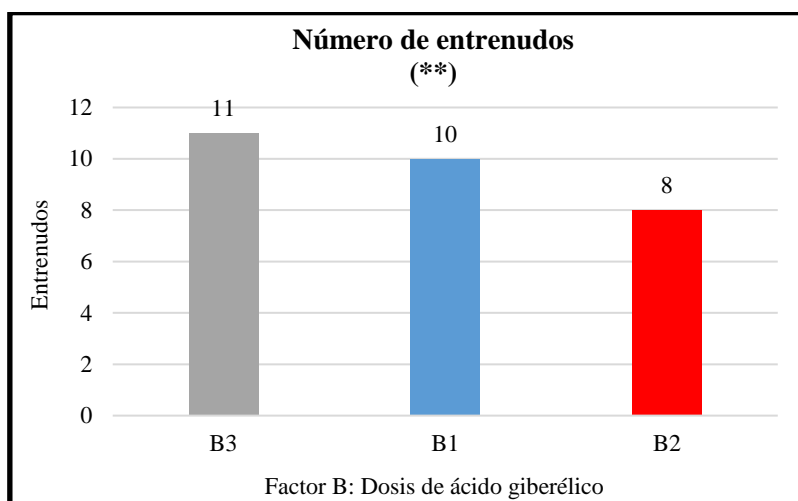
Gráfico N° 32. Promedios de altura de planta



En altura de planta, de acuerdo a la prueba de Tukey al 5% fue no significativa; sus valores son similares numéricamente, pero estadísticamente no tienen diferencias, es decir las dosis de ácido giberélico fueron factores independientes en esta variable.

La mayor altura se registró en B1: 1.0 mg con 6.33 cm y la menor altura se cuantificó en B2: 2.5 mg con 6.13 cm. Con un promedio general de 6.21 cm y un coeficiente de variación de 11.24%, (Cuadro N° 2).

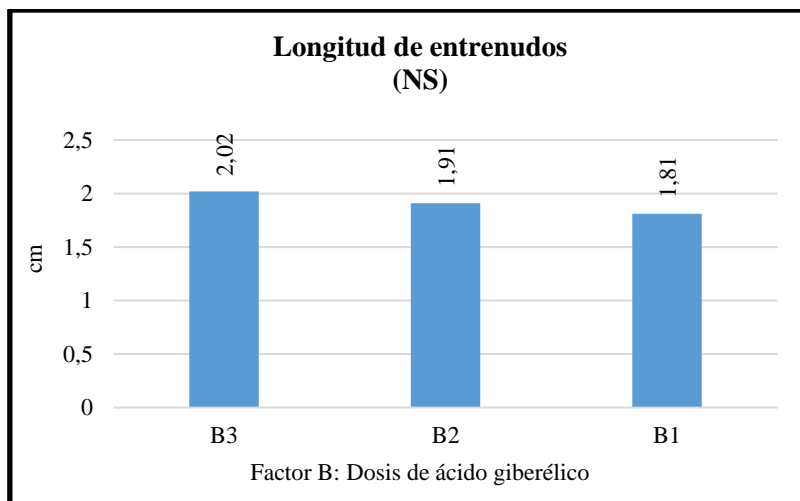
Gráfico N° 33. Promedios de número de entrenudos



El mayor número se registró en B3: 4.0 mg con 11 entrenudos, mientras que el menor se cuantificó en B2: 2.5 mg con 8 entrenudos. El promedio general de 10 entrenudos por planta, y el coeficiente de variación de 11.97%, (Cuadro N° 2).

Esta variable es una característica varietal, debido a que una variedad tiene mejores características genéticas que las otras.

Gráfico N° 34. Promedios de longitud entrenudos



Longitud de entrenudos, fue no significativa; la mayor longitud se obtuvo en B3: 4.0 mg con 2.02 cm, mientras que la menor longitud se cuantificó en por B1: 1.0 mg con 1.81 cm. Se registró un promedio general de 1.91 cm, y un coeficiente de variación de 18.17%, (Cuadro N° 2).

5.3. Variables agronómicas Interacción de Factores A x B

Cuadro N° 3: Resultados para comparar los promedios de tratamientos A x B: Variedades de naranja x Dosis de ácido giberélico en las variables: Días a la germinación (DG), Porcentaje de semillas germinadas (PSG), Número de magentas contaminadas (NMC), Número de explantes por embriones (NEE), Longitud del explante (LE) (45 y 90 días), Días a transferir a un medio de multiplicación (DTMM), Número de hojas por explante (NHE), Días al medio de enraizamiento (DME), Días a la emisión de raíces (DER), Volumen de raíz (VR), Días a la transferencia a condiciones medioambientales externas (DTCME), Porcentaje de mortalidad de las plantas al trasplante a condiciones externas (PMPTCE), Longitud de las hojas (LH), Ancho de las hojas (AH), Diámetro del tallo (DT), Diámetro del pecíolo (DP), Altura de planta (AP), Número de entrenudos (NEN) y Longitud de entrenudos (LEN). (Guaranda 2017).

Variables	Interacción A x B															Media General	CV%
	Fase de laboratorio																
DG (NS)	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	T13	T14	T15	21 días	0.0
	21 A	21 A	21 A	21 A	21 A	21 A	21 A	21 A	21 A	21 A	21 A	21 A	21 A	21 A	21 A		
PSG (NS)	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	T13	T14	T15	100%	0.0
	100 A	100 A	100 A	100 A	100 A	100 A	100 A	100 A	100 A	100 A	100 A	100 A	100 A	100 A	100 A		
NMC (NS)	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	T13	T14	T15	0 magentas	0.0
	0 A	0 A	0 A	0 A	0 A	0 A	0 A	0 A	0 A	0 A	0 A	0 A	0 A	0 A	0 A		
NEE (**)	T7	T12	T3	T4	T9	T8	T1	T5	T2	T11	T13	T6	T10	T14	T15	2 explantes	18.96
	4 A	4 AB	3 ABC	3 ABC	3 ABC	3 ABC	3 ABCD	3 ABCD	2 BCDE	2 CDE	2 CDE	1 DE	1 DE	1 DE	1 E		

LE (45) (**)	T13	T4	T14	T9	T7	T2	T10	T5	T3	T1	T6	T15	T12	T8	T11	2.67 cm	9.63
	4.02 A	3.32 AB	3.27 AB	3.16 BC	3.05 BCD	2.70 BCD	2.65 BCDE	2.57 CDEF	2.46 CDEF	2.30 CDE	2.21 CDEF	2.18 EF	2.17 EF	2.12 EF	1.91 F		
LE (90) (**)	T13	T14	T4	T9	T7	T2	T5	T10	T3	T6	T1	T8	T15	T12	T11	3.56 cm	8.30
	5.06 A	4.28 AB	4.19 ABC	4.16 BC	3.98 BCD	3.53 BCDE	3.53 BCDE	3.50 BCDE	3.30 CDE	3.13 DE	3.11 DE	3.03 E	3.00 E	2.97 E	2.65 E		
DTMM (NS)	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	T13	T14	T15	45 días	0.00
	45 A	45 A	45 A	45 A	45 A	45 A	45 A	45 A	45 A	45 A	45 A	45 A	45 A	45 A	45 A		
NHE (**)	T8	T7	T3	T10	T13	T4	T1	T5	T9	T2	T11	T12	T6	T14	T15	3 hojas	18.03
	6 A	4 B	4 BC	4 BC	4 BC	3 BCD	3 CDE	2 CDE	2 CDE	2 CDE	2 DE	2 DE	1 E	1 E	1 E		
Fase de campo																	
DME (NS)	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	T13	T14	T15	125 días	0.0
	125 A	125 A	125 A	125 A	125 A	125 A	125 A	125 A	125 A	125 A	125 A	125 A	125 A	125 A	125 A		
DER (NS)	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	T13	T14	T15	160 días	0.0
	160 A	160 A	160 A	160 A	160 A	160 A	160 A	160 A	160 A	160 A	160 A	160 A	160 A	160 A	160 A		
VR (**)	T6	T1	T8	T12	T11	T2	T13	T14	T10	T3	T7	T15	T5	T9	T4	0.94 ml	3.07
	1.37 A	1.20 AB	1.17 ABC	1.00 ABCD	0.93 BCD	0.90 BCD	0.90 BCD	0.90 BCD	0.90 BCD	0.87 BCD	0.83 BCD	0.83 BCD	0.83 BCD	0.80 CD	0.80 CD		
DTCME (NS)	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	T13	T14	T15	181 días	0.0
	181 A	181 A	181 A	181 A	181 A	181 A	181 A	181 A	181 A	181 A	181 A	181 A	181 A	181 A	181 A		
PMPTCE (NS)	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	T13	T14	T15	0%	0.0
	0 A	0 A	0 A	0 A	0 A	0 A	0 A	0 A	0 A	0 A	0 A	0 A	0 A	0 A	0 A		
LH (**)	T7	T13	T6	T4	T15	T14	T5	T8	T9	T11	T12	T3	T1	T2	T10	1.77 cm	18.53
	2.60 A	2.33 AB	2.33 AB	2.17 ABC	2.07 ABCD	2.00 ABCDE	2.00 ABCDE	2.00 ABCDE	1.50 BCDE	1.40 BCDE	1.40 BCDE	1.30 CDE	1.27 CDE	1.13 DE	1.07 E		
AH	T7	T8	T13	T14	T1	T3	T12	T6	T9	T15	T11	T2	T5	T10	T4	1.03 cm	16.75

(**)	1.57 A	1.43 A	1.23 ABC	1.13 ABCD	1.07 ABCDE	1.07 ABCDE	1.07 ABCDE	1.00 BCDE	1.00 BCDE	1.00 BCDE	0.90 CDE	0.87 CDE	0.80 CDE	0.70 DE	0.60 E		
DT (**)	T8	T9	T7	T3	T1	T2	T4	T6	T5	T12	T10	T11	T13	T14	T15	1.41 mm	6.74
	1.74 A	1.73 A	1.67 AB	1.65 AB	1.62 ABC	1.60 ABC	1.60 ABC	1.53 ABC	1.53 ABC	1.39 BC	1.36 C	1.35 C	0.81 D	0.77 D	0.76 D		
DP (**)	T12	T11	T10	T13	T14	T6	T1	T3	T2	T9	T4	T5	T8	T7	T15	1.70 mm	12.51
	2.64 A	2.61 A	2.26 AB	1.67 BC	1.63 BC	1.56 C	1.54 C	1.53 C	1.52 C	1.52 C	1.52 C	1.49 C	1.48 C	1.42 C	1.17 C		
AP (NS)	T7	T3	T1	T2	T13	T8	T9	T15	T14	T12	T10	T11	T6	T4	T5	6.21 cm	11.24
	6.67 A	6.50 A	6.37 A	6.33 A	6.30 A	6.27 A	6.27 A	6.23 A	6.20 A	6.17 A	6.13 A	6.10 A	6.07 A	5.87 A	5.73 A		
NEN (**)	T9	T15	T1	T3	T7	T12	T13	T6	T8	T14	T10	T11	T2	T4	T5	10 entrenudos	11.97
	12 A	12 AB	11 ABC	11 ABC	11 ABC	10 ABC	10 ABC	10 ABCD	9 ABCD	9 ABCD	9 ABCD	9 ABCD	8 BCD	8 CD	6 E		
LEN (**)	T12	T10	T11	T14	T9	T15	T13	T8	T6	T7	T3	T5	T1	T4	T2	1.91 cm	18.17
	2.87 A	2.83 A	2.73 A	2.33 AB	2.03 ABC	1.97 ABC	1.93 ABC	1.83 ABC	1.67 BC	1.57 BC	1.57 BC	1.43 BC	1.40 BC	1.33 BC	1.20 C		

Fuente: Investigación en el laboratorio 2017.

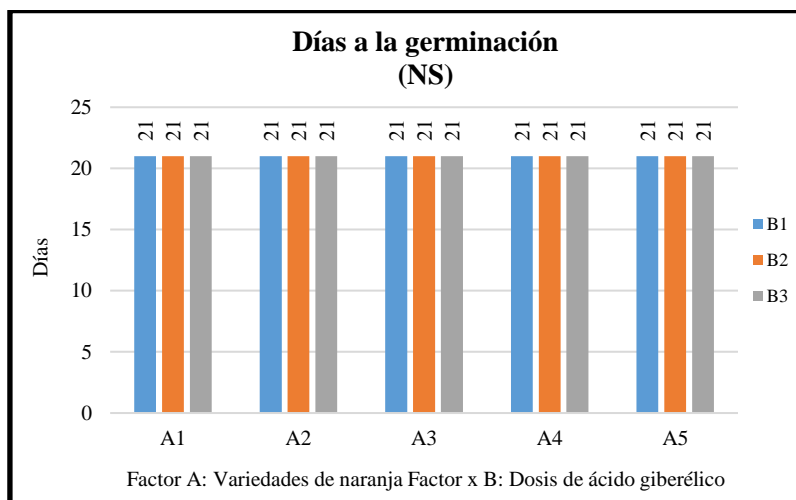
Promedios con la misma letra, son estadísticamente iguales al 5% y promedios con distinta letra, son estadísticamente diferentes al 1%.

La respuesta de la interacción del factor A: Variedades de naranja: A1: Naranja Común, A2: Naranja Valencia, A3: Naranja Tanyellow, A4: Naranja Lima y A5: Naranja Agria por el factor B: Dosis de ácido giberélico: B1: 1.0 mg/l, B2: 2.5 mg/l, B3: 4.0 mg/l, para comparar los promedios de las variables: Días a la germinación (DG), Porcentaje de semillas germinadas (PSG), Número de magentas contaminadas (NMC), Días a transferir a un medio de multiplicación (DTMM), Días al medio de enraizamiento (DME), Días a la emisión de raíces (DER), Días a la transferencia a condiciones medioambientales externas (DTCME), Porcentaje de mortalidad de las plantas al trasplante a condiciones externas (PMPTCE), Altura de planta (AP), fue no significativa (NS) (Cuadro N° 3); es decir fueron factores no dependientes.

Las variables: Número de explantes por embriones (NEE), Longitud del explante (LE) (45 y 90 días), Número de hojas por explante (NHE), Volumen de raíz (VR), Longitud de la hoja (LH), Ancho de la hoja (AH), Diámetro del tallo (DT), Diámetro del pecíolo (DP), Número de entrenudos (NEN) y Longitud de entrenudos (LEN), fue no significativa (NS); ya que no hubo efecto significativo de las dosis, fueron altamente significativas (**), (Cuadro N° 3).

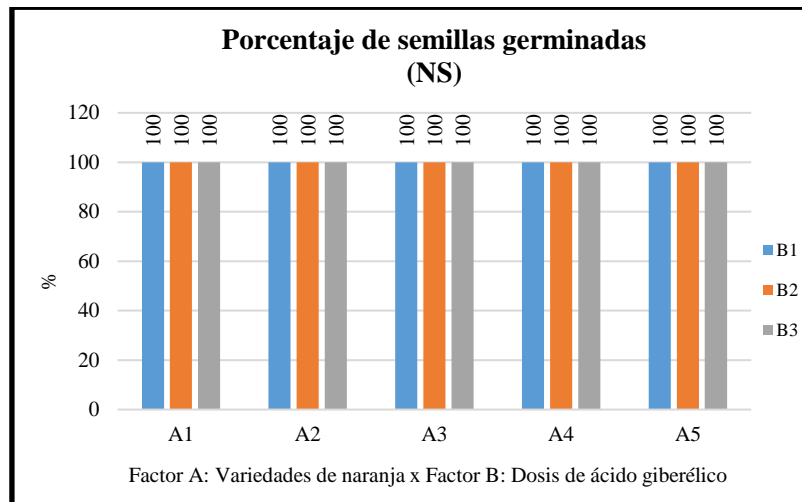
5.3.1. Variables registradas en el laboratorio

Gráfico N° 35. Interacción de factores A x B en días a la germinación



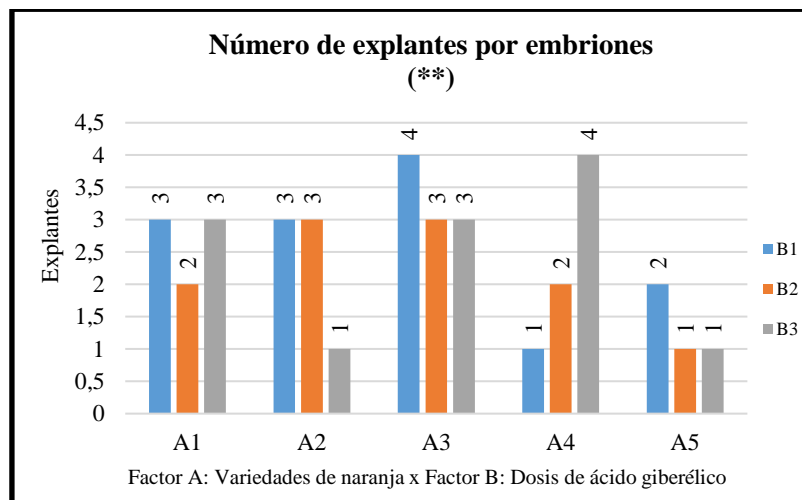
En la variable días a la germinación de acuerdo a la prueba de Tukey al 5% fue no significativa; es decir fueron factores independientes en esta variable, los promedios fueron de 21 días en todos los tratamientos evaluados; (Cuadro N° 3).

Gráfico N° 36. Interacción de factores A x B en porcentaje de semillas germinadas



La variable porcentaje de semillas germinadas, en la interacción de factores de acuerdo a la prueba de Tukey al 5% fue no significativa; se registró un 100% de germinación en todos los tratamientos evaluados, (Cuadro N° 3).

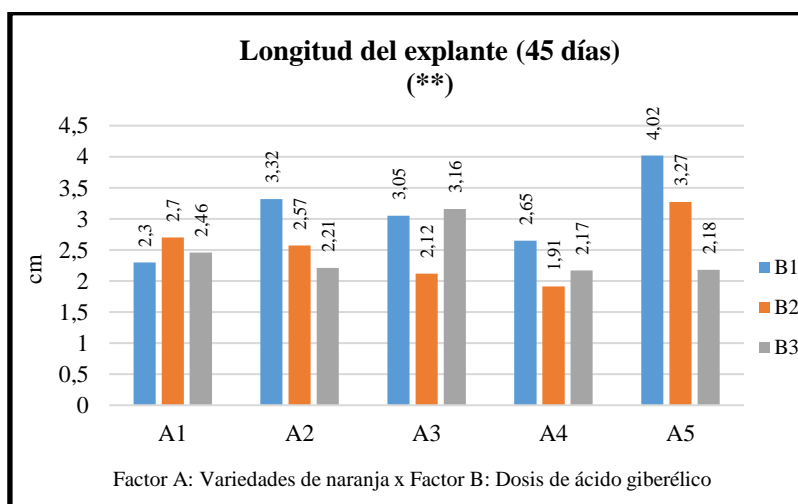
Gráfico N° 37. Interacción de factores A x B en número de explantes por embriones



En número de explantes por embriones de acuerdo a la prueba de Tukey al 5% fue altamente significativa. El mayor número de explantes se registró en T7: (A3B1) N. Tanyellow + 1.0 mg (A.G) y T12: (A4B3) N. Lima + 4.0 mg (A.G) con 4 explantes, mientras que el menor número se registró en los tratamientos: T6: (A2B3) N. Valencia + 4.0 mg (A.G), T10: (A4B1) N. Lima + 1.0 mg (A.G), T14: (A5B2) N. Agria + 2.5 mg (A.G) y T15: (A5B3) N. Agria + 4.0 mg (A.G). Se registró un promedio general de 1 explantes y un coeficiente de variación de 18.96%, (Cuadro N° 3).

La respuesta de dos variedades tiene la misma capacidad genética para la multiplicación en condiciones controladas

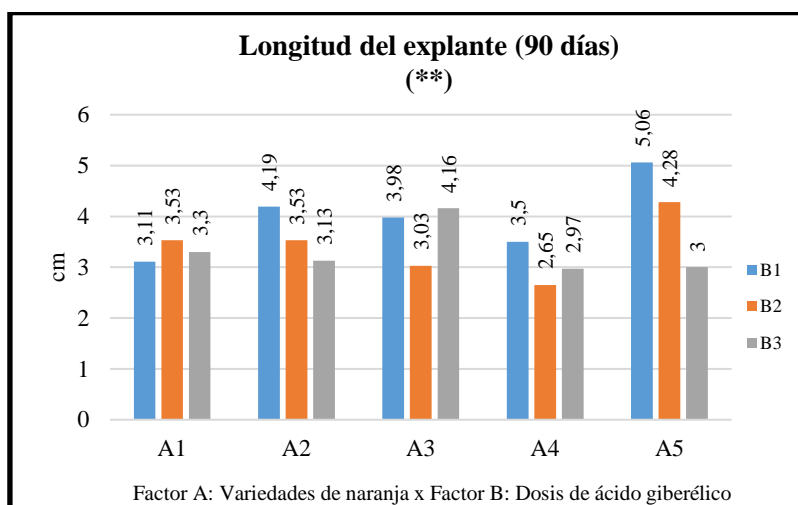
Gráfico N° 38. Interacción de factores A x B en longitud del explante (45 días)



En la variable longitud del explante a los 45 días, de acuerdo a la prueba de Tukey al 5% fue altamente significativa; en los promedios de los tratamientos A x B la mayor longitud se obtuvo en T13: (A5B1) N. Agria + 1.0 mg (A.G) con 5.06 cm y la menor longitud se registró en T11: (A4B2) N. Lima + 2.5 mg (A.G) con 2.65 cm, presentándose una media general de 2.67 cm y un coeficiente de variación de 9.63%, (Cuadro N° 3).

Al utilizar diferentes concentraciones de ácido giberélico 1.0, 2.5 y 4.0 mg/litro, la respuesta es diferente para cada variedad, a pesar de ser el mismo medio de cultivo en todas las variedades.

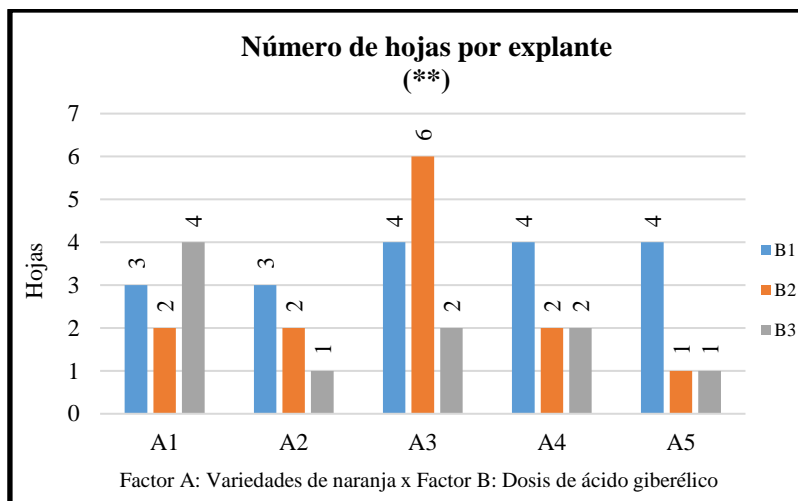
Gráfico N° 39. Interacción de factores A x B en longitud del explante (90 días)



La variable longitud del explante a los 90 días en la interacción de factores A x B, la respuesta de acuerdo a la prueba de Tukey al 5% fue altamente significativa; la mayor longitud se obtuvo en T13: (A5B1) N. Agria + 1.0 mg (A.G) con 5.06 cm y la menor longitud se registró en T11: (A4B2) N. Lima + 2.5 mg (A.G) con 2.65 cm, presentándose una media general de 3.56 cm y un coeficiente de variación de 8.30%, (Cuadro N° 3).

La respuesta a los 90 días al utilizar diferentes concentraciones de ácido giberélico de 1.0, 2.5 y 4.0 mg/litro, en todas las variedades aumentó de tamaño.

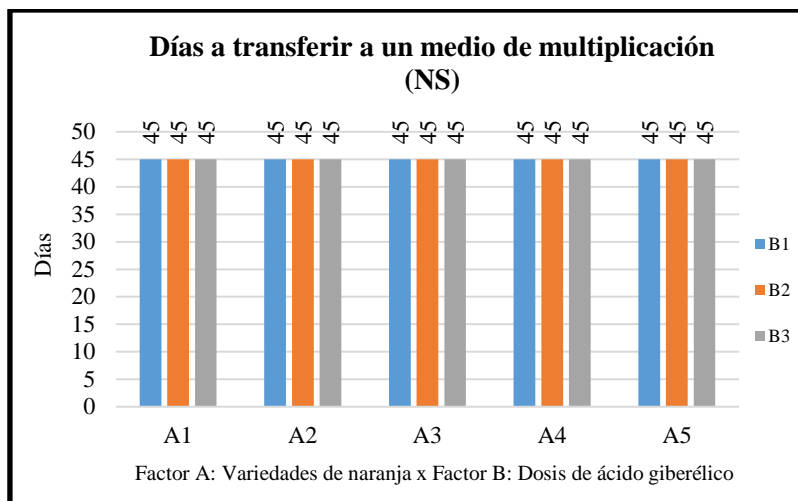
Gráfico N° 40. Interacción de factores A x B en número de hojas por explante



La variable número de hojas **por explante** en la interacción de factores A x B, la respuesta de acuerdo a la prueba de Tukey al 5% fue altamente significativa; el mayor número de hojas se obtuvo en T8: (A3B2) N. Tanyellow + 2.5 mg (A.G) con 6 hojas, y el menor número se obtuvo en los tratamientos T6: (A2B3) N. Valencia + 4.0 mg (A.G), T14: (A5B2) N. Agria + 2.5 mg (A.G) y T15: (A5B3) N. Agria + 4.0 mg (A.G) con 1 hoja respectivamente, con una media general de 3 hojas, y un coeficiente de variación de 18.03%, (Cuadro N° 3).

La respuesta a esta variable a pesar que se utilizó el mismo medio y bajo condiciones medioambientales controladas se debió a la capacidad genética de cada variedad.

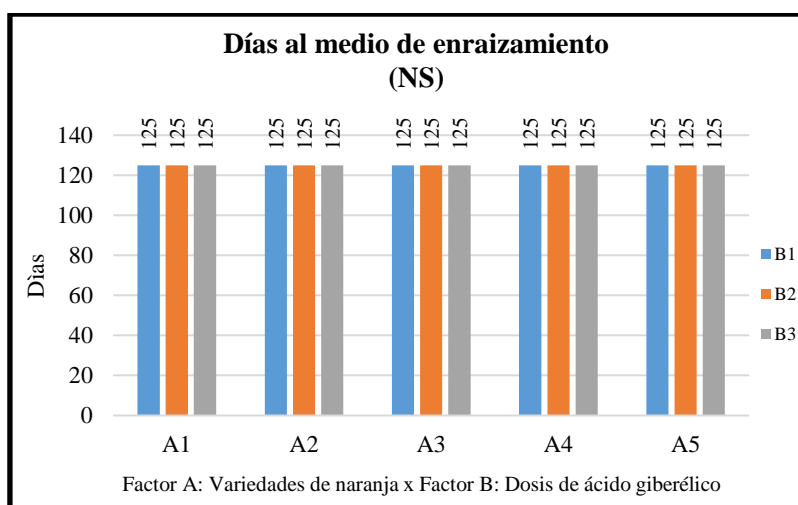
Gráfico N° 41. Interacción de factores A x B en Días a transferir a un medio de multiplicación



La variable días a transferir a un medio de multiplicación en la interacción de factores A x B, la respuesta de acuerdo a la prueba de Tukey al 5% fue no significativa, en todos los tratamientos los explantes se transfirieron a los 45 días, no existió diferencia estadística ni numérica, (Cuadro N° 3).

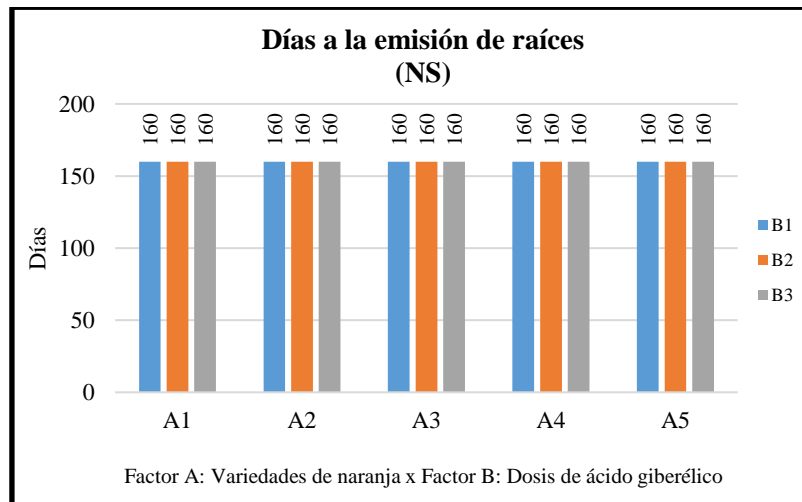
5.3.2. Variables registradas en el ambiente exterior

Gráfico N° 42. Interacción de factores A x B en días al medio de enraizamiento



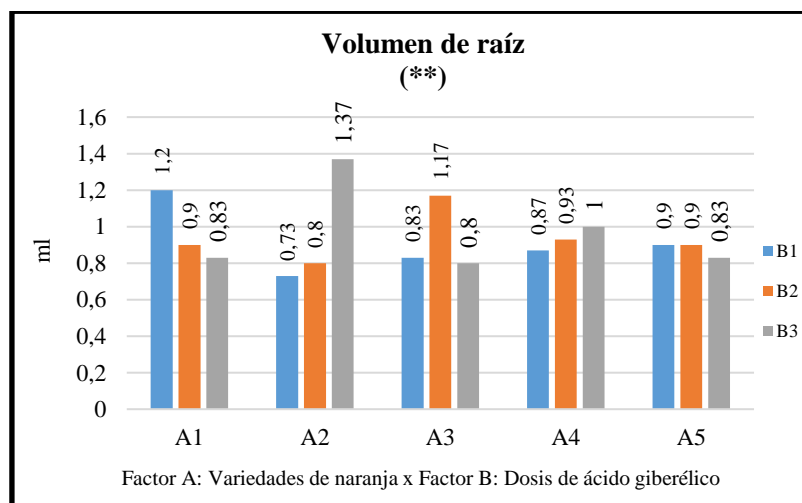
En la variable días al medio de enraizamiento, los tratamientos tuvieron una respuesta similar de 125 días, no existió diferencia estadística ni numérica, es decir fueron factores independientes en esta variable, (Cuadro N° 3).

Gráfico N° 43. Interacción de factores A x B en días a la emisión de raíces



En la variable días a la emisión de raíces, de acuerdo a la prueba de Tukey al 5% fue no significativa; se registró la emisión a los 160 días en todos los tratamientos evaluados, no existió diferencia estadística ni numérica, (Cuadro N° 3).

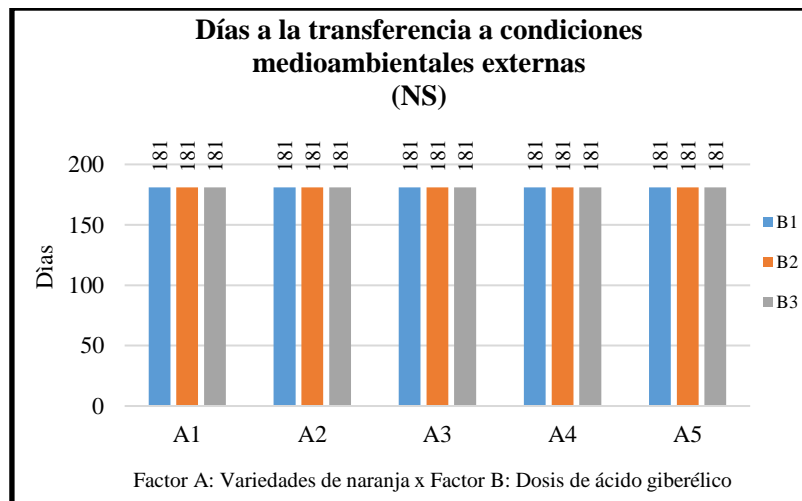
Gráfico N° 44. Interacción de factores A x B en volumen de raíz



En volumen de raíz de acuerdo a la prueba de Tukey al 5% fue altamente significativa; se registró el mayor volumen en T6: (A2B3) N. Valencia + 4.0 mg (A.G) con 1.37 ml, mientras el menor volumen se cuantificó en T4: (A2B1) N. Valencia + 1.0 mg (A.G) con 0.73 ml. Con una media general de 0.94 ml y un coeficiente de variación de 13.07%, (Cuadro N° 3).

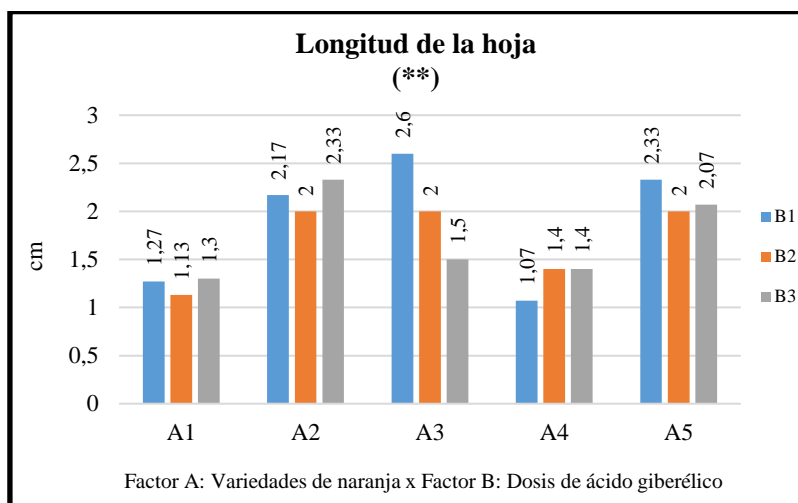
La respuesta es debido a las diferentes dosis de reguladores de crecimiento que se utilizó para todas las variedades.

Gráfico N° 45. Interacción de factores A x B en días a la transferencia a condiciones medioambientales externas



La variable días a la transferencia a condiciones medioambientales externas, en la interacción de factores A x B, de acuerdo a la prueba de Tukey al 5% fue no significativa; la transferencia de todos los tratamientos se realizó a los 181 días, (Cuadro N° 3).

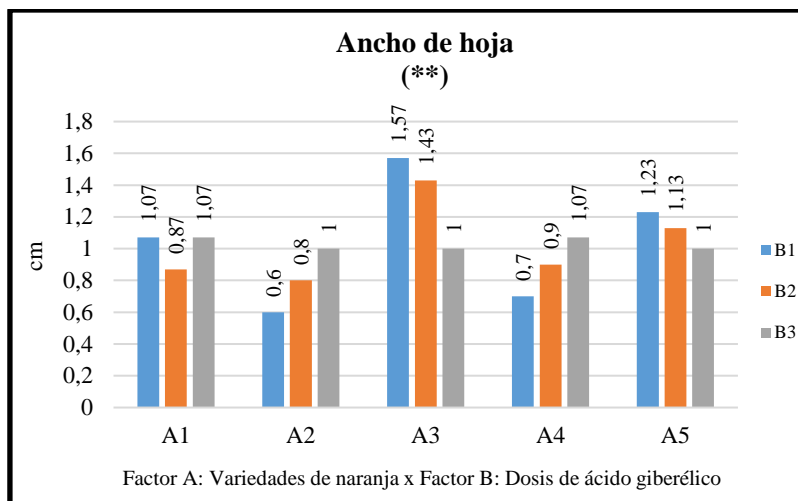
Gráfico N° 46. Interacción de factores A x B en longitud de la hoja



La variable longitud de la hoja fue altamente significativa; la mayor longitud se registró en T7: (A3B1) N. Tanyellow + 1.0 mg (A.G) con 2.6 cm y el menor promedio en T10: (A4B1) N. Lima + 1.0 mg (A.G) con 1.07 cm. El promedio general fue de 1.77 cm y el coeficiente de variación de 18.53%, (Cuadro N° 3).

Al utilizar diferentes concentraciones de ácido giberélico 1.0, 2.5 y 4.0 mg/litro, la respuesta fue diferente para cada variedad, a pesar de ser el mismo medio de cultivo utilizado en la multiplicación de embríos inmaduros.

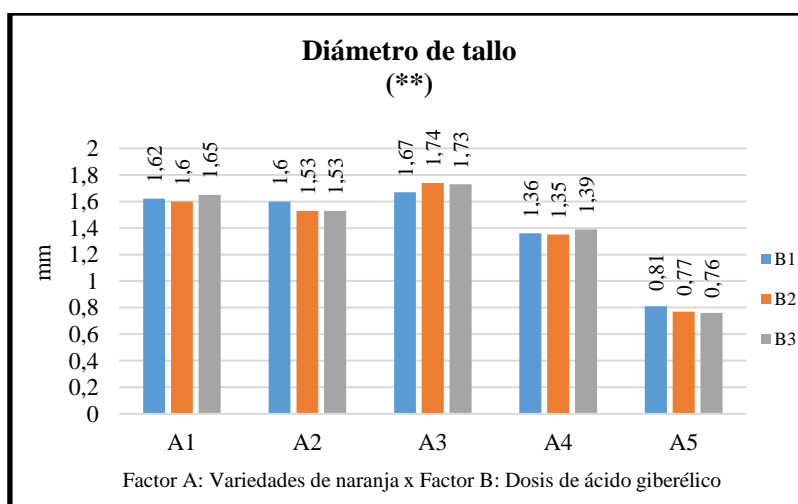
Gráfico N° 47. Interacción de factores A x B en ancho de la hoja



El ancho de la hoja, de acuerdo a la prueba de Tukey al 5% fue altamente significativa; se registró la mayor longitud en T7: (A3B1) N. Tanyellow + 1.0 mg (A.G) con 1.57 cm y el menor promedio se presentó en T4: (A2B1) N. Valencia + 1.0 mg (A.G) con 0.60 cm. El promedio general fue de 1.03 cm y el coeficiente de variación de 16.75%, (Cuadro N° 3).

Esto se debió a la capacidad genética para la multiplicación de cada variedad.

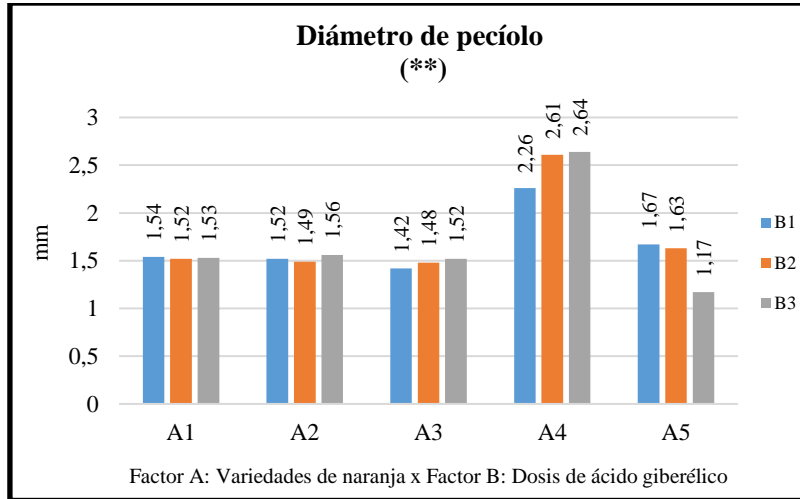
Gráfico N° 48. Interacción de factores A x B en diámetro del tallo



El diámetro del tallo, de acuerdo a la prueba de Tukey al 5% fue altamente significativa; el tratamiento que tuvo un mayor diámetro fue T8: (A3B2) N. Tanyellow + 2.5 mg (A.G) con 1.74 mm, mientras que el menor diámetro se presentó en T15: (A5B3) N. Agria + 4.0 mg (A.G) con 0.76 mm. Con una media general de 1.41 mm y el coeficiente de variación de 6.74%, (Cuadro N° 3).

La respuesta se dio al utilizar diferentes concentraciones de reguladores de crecimiento para cada variedad.

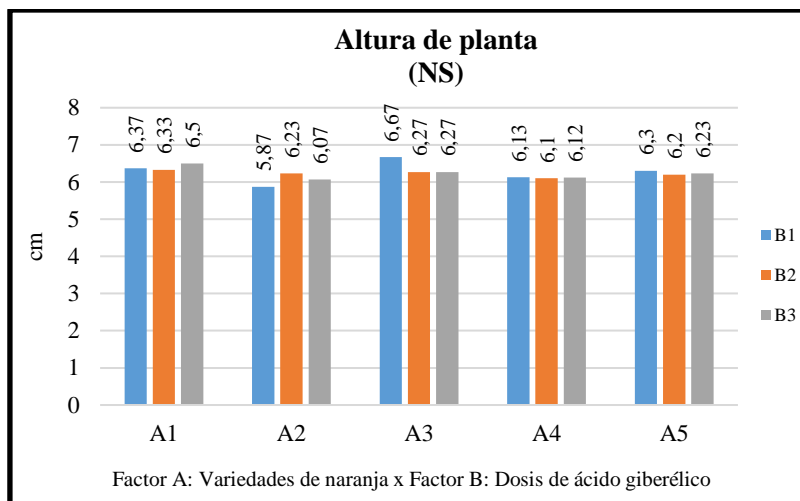
Gráfico N° 49. Interacción de factores A x B en diámetro del pecíolo



La variable diámetro del pecíolo de acuerdo a la prueba de Tukey al 5% fue altamente significativa; se registró un mayor diámetro en T12: (A4B3) N. Lima + 4.0 mg (A.G) con 2.64 mm y el menor diámetro se cuantificó en T15: (A5B3) N. Agria + 4.0 mg (A.G) con 1.17 mm. El promedio general fue de 1.70 mm y el coeficiente de variación de 12.51%, (Cuadro N° 3).

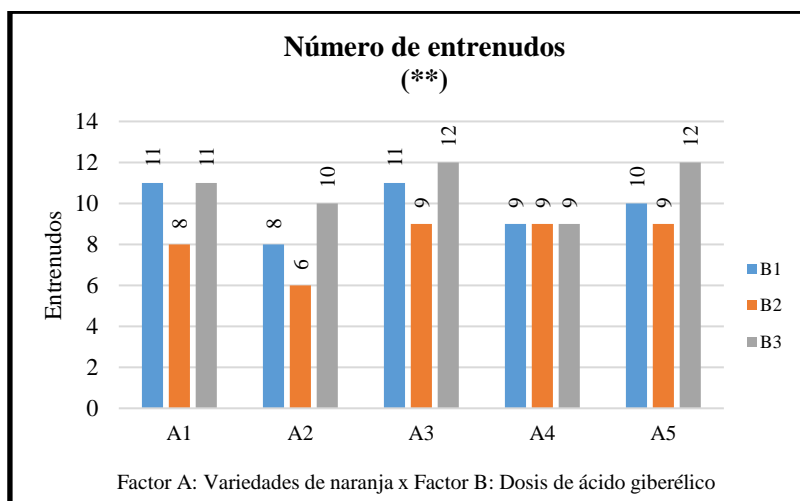
La respuesta fue diferente debido a las características genéticas que presenta cada planta por cada variedad.

Gráfico N° 50. Interacción de factores A x B en altura de planta



En altura de la planta de acuerdo a la prueba de Tukey al 5% fue no significativa; la mayor altura se registró en T7: (A3B1) N. Tangelow + 1.0 mg (A.G) con 6.67 cm y la menor altura se cuantificó en T5. (A2B2) N. Valencia + 2.5 mg (A.G) con 5.87 cm. Con un promedio general de 6.21 cm y un coeficiente de variación de 11.24%, (Cuadro N° 3).

Gráfico N° 51. Interacción de factores A x B en número de entrenudos

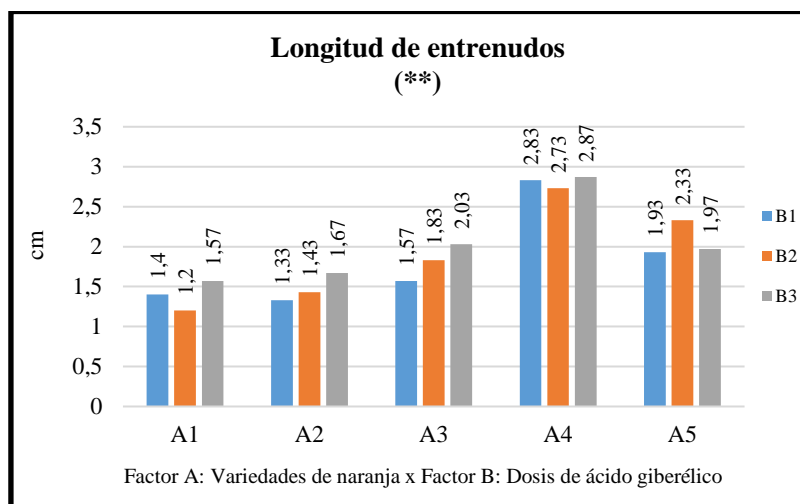


La variable número de entrenudos, de acuerdo a la prueba de Tukey al 5% fue altamente significativa; el mayor número se registró en T9: (A3B3) N. Tanyellow + 4.0 mg (A.G) y T15: (A5B3) N. Agria + 4.0 mg (A.G) con 19 entrenudos, mientras que el menor promedio se cuantificó en T5. (A2B2) N. Valencia + 2.5 mg (A.G) con 6 entrenudos. El

promedio general fue de 10 entrenudos y el coeficiente de variación de 11.97%, (Cuadro N° 3).

Las variedades tiene la misma capacidad genética para la multiplicación en condiciones externas (invernaderos).

Gráfico N° 52. Interacción de factores A x B en longitud de entrenudos



La longitud de entrenudos de acuerdo a la prueba de Tukey al 5% fue altamente significativa; la mayor longitud se obtuvo en T12: (A4B3) N. Lima + 4.0 mg (A.G) con 2.87 cm, mientras que la menor longitud se cuantificó en T2: (A1B2) N. Común + 2.5 mg (A.G) con 1.20 cm. Se registró un promedio general de 1.91 cm y un coeficiente de variación de 18.17 %, (Cuadro N° 3).

La respuesta fue diferente en condiciones externas para cada variedad debido a las características genéticas que presenta cada planta.

5.4. Análisis de correlación y regresión lineal

Cuadro N° 4. Resultado del análisis de correlación y regresión lineal de las variables independientes (Xs), que tuvieron una significativa positiva sobre la altura de planta (Variable dependiente Y) en plantas de naranja, (Guaranda. 2018).

Variables independientes componentes AP a condiciones externas	Coefficiente de correlación (r)	Coefficiente de Regresión (b)	Coefficiente de determinación (R²) (%)
NEN	0.43 *	0.1849	18.49%

Fuente: Investigación en el campo 2017.

* = Significativo al 1%.

5.4.1. Coeficiente de correlación (r)

Correlación es la relación o estrechez significativa positiva o negativa entre dos variables y su valor máximo es +/-1 y no tiene unidades. En esta investigación la variable que tuvo relación significativa positiva con la Altura de plantas fue Número de entrenudos (NEN), (Cuadro N° 4).

5.4.2. Coeficiente de regresión (b)

Regresión es el incremento o disminución de la variable dependiente (Y), por cada cambio único de las variables independientes (Xs). En este ensayo la variable que contribuyó a incrementar la altura de plantas fue Numero de entrenudo (NEN); es decir que valores más elevados de esta variable significó mayor altura de planta al final del ensayo, (Cuadro N° 4).

5.4.3. Coeficiente de determinación (R²)

El (R²) explica en qué porcentaje se incrementó o disminuyó la variable dependiente (Y), por efecto de las variables independientes (Xs). En esta investigación la variable que contribuyó con 18.49% para altura de plantas fue Numero de entrenudos (NEN), (Cuadro N° 4).

5.5. Análisis de la relación beneficio/costo (B/C)

Cuadro N° 5. Costo total del ensayo.

Tratamientos	A1	A2	A3	A4	A5
N° Plantas	45	45	45	45	45
Precio x Planta	6	4	7	5	6
Ingreso bruto	270	180	315	225	270
Costos q varían					
Papel aluminio	5	5	5	5	5
Papel toalla	3	3	3	3	3
Alcohol antiséptico	15.2	15.2	15.2	15.2	15.2
Alcohol 950	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
jabón líquido	4	4	4	4	4
Macro/micronutrientes	62.73	62.73	62.73	62.73	62.73
Quelatos de hierro	17.99	17.99	17.99	17.99	17.99
Vitaminas	25.2	25.2	25.2	25.2	25.2
Reguladores de crecimientos	31.5	31.5	31.5	31.5	31.5
Agar	19.8	19.8	19.8	19.8	19.8
Costo total	190.92	190.92	190.92	190.92	190.92
Ingreso neto	79.08	-10.92	124.08	34.08	79.80

Fuente: Investigación en el campo 2017.

Para evaluar la rentabilidad de las plantas se tomó en cuenta los costos que varían en cada variedad de naranja, se siguió la metodología de cálculo de la relación beneficio costo (B/C), para lo cual se determinaron los costos de producción de plantas tomando en cuenta el vigor de cada una de ellas.

Cuadro N° 6. Cálculo de la relación beneficio/costo (B/C).

Tratamiento	Ingreso bruto (\$)	Costo total (\$)	Ingreso neto (\$)	B/C
T7 (A ₃ B ₁)	315	190.92	124.08	0.65

De acuerdo con los costos totales de producción de plantas y considerando el número de plantas vendidas se infiere: En cuanto a los beneficios netos totales (\$/) de plantas; la mejor variedad fue: A3: Naranja Tanyellow por que presentó un beneficio neto más alto de \$ 124.08 USD y una relación beneficio/costo: B/C de \$ 0.65. Esto quiere decir que el productor de plantas por cada dólar invertido, tiene una ganancia de \$ 0.65 USD, (Cuadro N° 8).

VI. COMPROBACIÓN DE LA HIPÓTESIS

La respuesta agromorfológica de plántulas de cinco variedades de naranja y tres dosis de ácido giberélico fue estadísticamente diferente, por lo tanto se acepta la hipótesis alterna planteada.

VII. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

7.1. Conclusiones

En base al análisis e interpretación de los resultados obtenidos en este ensayo se concluye lo siguiente:

- La respuesta de las variedades de naranja (Factor A), en cuanto a las características agromorfológicas registradas fueron similares; sin embargo el mayor promedio de altura se registró en A3: Naranja Tanyellow con 6.40 cm.
- En cuanto a la respuesta de las dosis de ácido giberélico (Factor B), se pudo identificar que hubo mayor promedio de altura en B1: 1.0 mg con 6.33 cm.
- En la interacción del factor A x B el mejor tratamiento fue T7: (A3B1) Naranja Tanyellow + 1.0 mg (A.G) con un promedio de 6.67 cm con respecto a los demás tratamientos.
- La variable que contribuyó positivamente sobre la altura de planta fue: Número de entrenudos (NEN) con 18.49%.
- De acuerdo al análisis económico el mejor tratamiento fue el T7: (A3B1) Naranja Tanyellow + 1.0 mg (A.G) presentando el beneficio neto más alto de \$ 124.08; con una relación beneficio costo (B/C) de \$ 0.65 USD, esto quiere decir que por cada dólar invertido el productor de planta de naranja in vitro recibe \$ 0.65 USD.

7.2. Recomendaciones

En base a las diferentes conclusiones sintetizadas en esta investigación se recomienda:

- Se recomienda la variedad Tanyellow para cultivos in vitro para la reproducción en laboratorio por el número de explantes por embriones.
- En cuanto a las dosis de ácido giberélico se recomienda la dosis de 10 mg, con la que se obtuvo mayor crecimiento en el laboratorio.
- Proseguir con la investigación mediante la multiplicación in vitro para la producción de plantas de calidad especialmente de la variedad Tanyellow.
- Difundir la tecnología in vitro pues su desarrollo representa una oportunidad de crecimiento y diversificación a nivel del sector hortifrutícola de nuestro país.

BIBLIOGRAFÍA

1. Avilan. L. 2010. Los cítricos. Aspectos botánicos. Primera edición. Impreso en Venezuela. Pp. 29 -127.
2. Aguilar, A. s.f. Guía Técnica para el cultivo de naranja. Bogotá D.C., Colombia. P. 4.
3. Baraona. M. 2000. Cítricos fruticultura especial. Fascículo 1. Universidad Estatal a Distancia. P. 24.
4. Bonilla. L. 2008. Cultivo de cítricos. Boletín N°10. Primera edición. Santo Domingo. República Dominicana. Pp. 2, 6, 7.
5. Cervantes. Y. *et al.* 2013. Biología Aplicada, Adaptación del Material In vitro, Cuba. P. 5.
6. Cortez, V. 2017. Medios de cultivo de Murashige y Skoog. Guaranda, Ecuador.
7. Cruz. F. 2012. Cultivo de Tejido Vegetal. Lima, Perú. Pp. 4, 10, 14.
8. García. F. 2009. Familia rutácea. Escuela Técnica Superior del Medio Rural y Enología. P. 7.
9. Imbrogno. L. *et al.* 2013. Efectos de los Medios de Cultivo en la elongación In vitro de Brotes, Biotecnología Vegetal. Bogotá, Colombia Vol. 13 N° 3. P. 2.
10. Malojovich. M. 2017. Guía técnica, Fundamentos Biológicos, Micropropagación. México. Pp. 3, 5.
11. Marín. J. *et al.* 2002. Germinación in vitro de embriones inmaduros a distintas temperaturas de estratificación. ITEA Vol. 98V N° 1, 71, 80. Buenos Aires, Argentina.

12. Montoliu. A. 2010. Respuestas fisiológicas de los cítricos sometidos a condiciones de estrés biótico y abiótico. Universitat Jaume. Escuela Superior Tecnológica de Ciencias Experimentales. Castellón de plana. P. 3.
13. Olmos. S. *et al.* 2012. Biotecnología y Mejoramiento Vegetal II. Métodos de propagación y conservación de germoplasmas. Costa Rica. P 14.
14. Rodríguez. N. *et al.* 2017. Cultivo In vitro de embriones maduros e inmaduros, Agricultura técnica, Cuba. P. 158.
15. SINAGAP. Sistema de Información Nacional de Agricultura, Ganadería, Acuicultura y Pesca 2015. Naranja Boletín Situacional 2015. Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuicultura y Pesca. P. 2.
16. Sergretin. M. 2017. Argenbio, Los Cultivos Celulares y sus Aplicaciones II. Panamá. P. 3, 5.
17. Uribe. M. *et al.* 2002. Aplicaciones Técnicas de Cultivos In vitro, Scielo, Vol. 25. N° 1. Argentina. Pp. 5, 12.
18. Valarezo. A. *et al.* 2014. Guía técnica sobre el manejo de los cítricos en el litoral ecuatoriano. Segunda edición. Manual técnico N° 101. INIAP. Portoviejo, Ecuador. P. 4, 18, 20.
19. <https://www.comenaranjas.com/es/blog/282-citricos-produccion-mundial-de-naranjas-y-mandarinas.html>
20. <http://delevantecitricos.blogspot.com/2011/10/botanicadeloscitricos.html>
21. <http://elproductor.com/2015/04/20/ecuador-un-agrio-futuro-eselque-se-vislumbra-para-las-naranjas/>
22. <https://es.scribd.com/doc/71499886/Aclimatacion-de-plantulas-producidas-in-vitro>

23. <http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/2211/4Cultivoinvitro.pdf?sequence=6.html>
24. <http://siaripre.blogspot.com/2012/11/334-cultivo-de-embriones.html>
25. <http://tecnicitrico.blogspot.html>
26. <http://www.csic.es/departament/genetica/torne.html>
27. http://www.ecured.cu/Medios_de_cultivo_para_la_propagaci%C3%B3n_in_vitro.html
28. http://www.ecured.cu/Micropropagaci%C3%B3n_de_plantas.html.
29. <http://www.fertilizer.es/8-3-gibberellic-acid.html>
30. <http://www.ibt.unam.mx/embrion/002.Docencia/002.B.FolderTutoriales/TutorialBioDes/P%87ginasTutorialBioDes/1.1BioDes.Introduccion.html>
31. <http://www.monografias.com/trabajos11/biotec/biotec.shtml>.
32. <http://www.monografias.com/trabajos87/manualproduccioncitricos/manual-produccion-citricos.shtml>.
33. <http://www.sp.edu.sg/schools/cls/bioline08.html>
34. <http://www.tecnicoagricola.es/acido-giberelico.html>.

ANEXOS

Anexo N° 1. Mapa satelital del lugar de la investigación



Anexo N° 2. Base de datos de la investigación, 2017

TRA	REP	FA	FB	DG	PSG	NMC	NEE	LE	LEF	NHE	DTMM	DME	DER	VR	NDTCME	PMPTCE	LH	AH	DT	DP	AP	NEN	LEN
1	1	1	1	15	100	0	3	2.3	3.2	3	45	125	160	1.2	181	0	1	1	1.61	1.55	6.3	10	1.3
2	1	1	2	20	100	0	3	2.7	3.46	2	45	125	160	0.8	181	0	0.9	0.8	1.62	1.54	6.2	8	1.1
3	1	1	3	28	100	0	3	2.51	3.49	4	45	125	160	0.9	181	0	1.3	1	1.64	1.56	6.5	10	1.5
4	1	2	1	15	100	0	3	3.32	3.85	3	45	125	160	0.8	181	0	2.4	0.7	1.69	1.6	5	7	1.4
5	1	2	2	20	100	0	3	2.21	3.2	2	45	125	160	0.8	181	0	2.1	0.8	1.53	1.53	5.1	6	1.3
6	1	2	3	28	100	0	1	2	3.02	1	45	125	160	1.4	181	0	2.1	1	1.58	1.61	5.3	8	1.5
7	1	3	1	15	100	0	4	3	3.87	4	45	125	160	1	181	0	2.6	1.6	1.72	1.49	6.5	11	1.3
8	1	3	2	20	100	0	3	2.25	3.31	6	45	125	160	1.3	181	0	2.9	1.8	1.9	1.48	7.2	9	1.8
9	1	3	3	28	100	0	3	3.32	4.33	2	45	125	160	0.7	181	0	1.1	0.9	1.93	1.51	6.9	13	1
10	1	4	1	15	100	0	1	2.65	3.44	3	45	125	160	0.8	181	0	1	0.7	1.3	2.25	6	9	3
11	1	4	2	20	100	0	1	1	1.68	2	45	125	160	1	181	0	1.2	0.9	1.32	2.26	6.3	10	2.9
12	1	4	3	28	100	0	3	2	2.76	1	45	125	160	1.1	181	0	1.7	1.3	1.29	2.25	5.9	11	3
13	1	5	1	15	100	0	1	4	5.04	3	45	125	160	0.9	181	0	2.1	1	0.9	1.8	6.6	9	2
14	1	5	2	20	100	0	1	3	3.99	1	45	125	160	1	181	0	2	1.1	0.76	1.82	6.4	8	2.1
15	1	5	3	28	100	0	1	2	2.78	1	45	125	160	0.7	181	0	2	0.9	0.73	1.25	7	11	1.9
1	2	1	1	15	100	0	2	2.4	3.16	2	45	125	160	1.3	181	0	1.3	1.3	1.65	1.63	7	11	1.5
2	2	1	2	20	100	0	2	2.8	3.66	2	45	125	160	1	181	0	1.2	1.1	1.65	1.6	6.9	9	1.3
3	2	1	3	28	100	0	3	2.27	3.15	3	45	125	160	0.8	181	0	1.5	1.3	1.68	1.61	7	10	1.6
4	2	2	1	15	100	0	3	3.27	4.3	4	45	125	160	0.6	181	0	2.1	0.5	1.53	1.42	6.4	9	1.3
5	2	2	2	20	100	0	2	2.75	3.64	2	45	125	160	0.7	181	0	2	0.9	1.51	1.43	6.1	6	1.2
6	2	2	3	28	100	0	2	2.37	3.34	1	45	125	160	1.2	181	0	2.9	1.2	1.53	1.52	6.6	10	1.6
7	2	3	1	15	100	0	4	3	4.02	4	45	125	160	0.8	181	0	2.6	1.7	1.59	1.55	7	10	1.6
8	2	3	2	20	100	0	3	2	2.89	6	45	125	160	0.9	181	0	1.7	1.1	1.57	1.61	5.1	9	2
9	2	3	3	28	100	0	3	3.15	4.18	2	45	125	160	0.9	181	0	1.9	1.2	1.52	1.84	5.5	11	3.1
10	2	4	1	15	100	0	2	2.75	3.72	4	45	125	160	1	181	0	1	0.8	1.45	2.42	5.4	7	2.5
11	2	4	2	20	100	0	2	2.72	3.61	2	45	125	160	0.9	181	0	1.3	1	1.42	2.5	5.2	6	2.5
12	2	4	3	28	100	0	4	2.25	3.04	2	45	125	160	0.9	181	0	1	0.9	1.54	2.56	5.7	9	2.9

13	2	5	1	15	100	0	2	4.05	5.07	4	45	125	160	0.8	181	0	2.3	1.4	0.82	1.52	5.8	12	2
14	2	5	2	20	100	0	1	3.3	4.35	2	45	125	160	0.9	181	0	2	1.4	0.84	1.46	5.5	11	2.9
15	2	5	3	28	100	0	1	2.25	3.14	1	45	125	160	0.8	181	0	2.1	1	0.86	1.13	5	12	2.3
1	3	1	1	15	100	0	3	2.2	2.98	3	45	125	160	1.1	181	0	1.5	0.9	1.59	1.43	5.8	12	1.4
2	3	1	2	20	100	0	2	2.6	3.47	2	45	125	160	0.9	181	0	1.3	0.7	1.54	1.42	5.9	8	1.2
3	3	1	3	28	100	0	3	2.6	3.27	4	45	125	160	0.8	181	0	1.1	0.9	1.63	1.42	6	12	1.6
4	3	2	1	15	100	0	3	3.37	4.43	3	45	125	160	0.8	181	0	2	0.6	1.58	1.53	6.2	8	1.3
5	3	2	2	20	100	0	3	2.75	3.74	3	45	125	160	0.9	181	0	1.9	0.7	1.55	1.5	6	7	1.8
6	3	2	3	28	100	0	1	2.25	3.03	2	45	125	160	1.5	181	0	2	0.8	1.49	1.54	6.3	11	1.9
7	3	3	1	15	100	0	4	3.15	4.04	4	45	125	160	0.7	181	0	2.6	1.4	1.71	1.22	6.5	11	1.8
8	3	3	2	20	100	0	3	2.12	2.9	5	45	125	160	1.3	181	0	1.4	1.4	1.76	1.35	6.5	10	1.7
9	3	3	3	28	100	0	3	3	3.98	3	45	125	160	0.8	181	0	1.5	0.9	1.74	1.21	6.4	12	2
10	3	4	1	15	100	0	1	2.55	3.34	4	45	125	160	0.8	181	0	1.2	0.6	1.32	2.1	7	10	3
11	3	4	2	20	100	0	2	2	2.67	2	45	125	160	0.9	181	0	1.7	0.8	1.3	3.08	6.8	10	2.8
12	3	4	3	28	100	0	4	2.25	3.12	2	45	125	160	1	181	0	1.5	1	1.35	3.11	6.9	11	2.7
13	3	5	1	15	100	0	2	4	5.07	4	45	125	160	1	181	0	2.6	1.3	0.7	1.7	6.5	10	1.8
14	3	5	2	20	100	0	2	3.5	4.49	1	45	125	160	0.8	181	0	2	0.9	0.72	1.6	6.7	9	2
15	3	5	3	28	100	0	1	2.3	3.09	2	45	125	160	1	181	0	2.1	1.1	0.69	1.13	6.7	12	1.7

Anexo N° 3. Fotografías de la instalación, seguimiento y evaluación de la investigación

Preparación de medio de cultivo



Siembra



Extracción de

Conteo de magentas contaminadas



Volumen de



Longitud de explante



Multiplicación



**Transferencia a condiciones
externas**

Número de hojas

Condiciones externas

Visita del Tribunal



Anexo N° 4 Glosario de términos técnicos



Ácido giberélico.- Es un fitorregulador de crecimiento de acción hormonal que estimula y regula el desarrollo de las plantas. La respuesta fisiológica de los vegetales tratados dependerá del estado de desarrollo en que se encuentran.

Auxinas.- Las auxinas (ácido indolacético) actúan como reguladores del crecimiento vegetal. Lo que hacen, en términos básicos, es aumentar el tamaño de las células, por lo que se traduce en un mayor tamaño de la planta. Además retrasa la caída de las hojas, induce al gravitropismo, promueve el crecimiento del fruto y el crecimiento de raíces laterales, etc.

Biotecnología.- Toda aplicación tecnológica que utilice sistemas biológicos u organismos vivos, partes de ellos o sus derivados, para la creación o modificación de productos o procesos para usos específicos.

Contaminación.- Presencia de plagas u otros artículos reglamentados en un producto básico, lugar de almacenamiento, medio de transporte o contenedor, sin que constituya una infestación.

Cruzamiento.- Unión sexual verificada entre dos individuos y que tiene por objeto dejar descendencia. En agricultura y ganadería se utiliza para obtener individuos con determinadas características, previa selección de los genitores.

Embrión.- La semilla es el embrión de la planta una vez ha alcanzado la madurez. Cuando la semilla es puesta en un medio y condiciones adecuadas germina una planta (la plántula), que dará lugar a un nuevo vegetal.

Estratificación.- La estratificación vegetal se refiere a la distribución que presentan las plantas en los ecosistemas y está determinada por el tamaño y tipo de vida de los organismos.

Fecundación.- La unión sexual del núcleo masculino, que contiene el polen, con el femenino del óvulo, haciendo que éste produzca un nuevo ser de la especie.

Feromona.- Sustancia química secretada por un individuo para provocar un comportamiento determinado en otro individuo.

Fitohormonas.- Sustancias químicas producidas por algunas células vegetales en sitios estratégicos de la planta y estas hormonas vegetales son capaces de regular de manera predominante los fenómenos fisiológicos de las plantas.

Genotipo.- Constitución genética de un organismo en oposición a su apariencia o fenotipo.

Germinación.- Es el proceso mediante el cual una semilla se desarrolla hasta convertirse en una nueva planta. Este proceso se lleva a cabo cuando el embrión se hincha y la cubierta de la semilla se rompe.

Germoplasma.- Conjunto formado por el total del material hereditario o banco genético, que contiene todas las posibles variaciones que presentan una o varias especies, poblaciones y grupos, entre otros.

Híbrido.- En la cría y en la agricultura, los híbridos son plantas o animales producidos por un cruzamiento de dos variedades o especies genéticamente diferentes.

In vitro.- Estas técnicas pueden ser utilizadas en vegetales como herramientas para micropropagación, propagación rápida de clones, eliminación de virus y enfermedades, producción de haploides, aislamiento y utilización de protoplastos, cultivo de embriones, producción de fitoquímicos, ingeniería genética, mutación y selección celular, producción de semillas sintéticas y estudios básicos de anatomía, desarrollo, fisiología y nutrición vegetal.

Infestación.- Invasión por parte de un parásito que se ha reproducido y extendido en un organismo.

Laboratorio.- Es un lugar que se encuentra equipado con los medios necesarios para llevar a cabo experimentos, investigaciones o trabajos de carácter científico o técnico.

En estos espacios, las condiciones ambientales se controlan y se normalizan para evitar que se produzcan influencias extrañas a las previstas, con la consecuente alteración de las mediciones, y para permitir que las pruebas sean repetibles.

Material genético.- Todo material de origen vegetal, animal, microbiano o de otro tipo que contenga unidades funcionales de la herencia.

Organismo vivo.- Se entiende cualquier entidad biológica capaz de transferir o replicar material genético, incluidos los organismos estériles, los virus y los viroides.

Tejidos.- Se define como un conjunto muy heterogéneo de técnicas que presentan en común el hecho de que un explanto o sea, una parte separada del vegetal, tales como protoplastos, células, tejidos u órganos se cultiva asépticamente en un medio artificial de composición química definida y se incuba en condiciones ambientales controladas. Cada fragmento origina una planta idéntica a la que se le tomó el fragmento, aunque puede ser modificada genéticamente para tener variedades artificiales.

Variedades.- En plantas, el término variedad tiene una definición botánica y una legal. En botánica y agronomía, la variedad es una población con caracteres que la hacen reconocible a pesar de que hibrida libremente con otras poblaciones de la misma especie.

Vegetales.- Las plantas vivas y las partes vivas de las plantas, incluidas las semillas.

Vitaminas.- Es un término compuesto formado por el vocablo latino vita (“vida”) y por el concepto químico amina. Las vitaminas son las sustancias orgánicas que están presentes en los alimentos y que resultan necesarias para el equilibrio de las funciones vitales

Yemas.- Es un órgano complejo de las plantas que se forma habitualmente en la axila de las hojas formado por un meristemo apical, (células con capacidad de división), a modo de botón escamoso (catáfilos) que darán lugar a hojas (foliíferas) y flores (floríferas). El color de las yemas sirve para identificar las especies.

