



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES**

**CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**

**"PROPAGACIÓN *in vitro* Y CULTIVO EN
INVERNADERO DE VARIEDADES EXÓTICAS DE
JITOMATE"**

QUE PRESENTA:

OSCAR EDUARDO MEDINA CASTAÑEDA

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRÍA EN CIENCIAS- ÁREA BIOTECNOLOGÍA VEGETAL

COTUTORES:

M. en C. OTILIO VAZQUEZ MARTINEZ

DR. EUGENIO MARTÍN PÉREZ MOLPHE BALCH

MIEMBRO DEL COMITÉ TUTORAL

DR. FRANCISCO MORALES DOMINGUEZ

Aguascalientes, Ags. Junio de 2013.



Centro de Ciencias Básicas

ING. OSCAR MEDINA CASTAÑEDA
ALUMNO (A) DE LA MAESTRÍA EN
CIENCIAS EN EL ÁREA DE BIOTECNOLOGÍA VEGETAL
P R E S E N T E .

Estimado (a) alumno (a) Medina:

Por medio de este conducto me permito comunicar a Usted que habiendo recibido los votos aprobatorios de los revisores de su trabajo de tesis y/o caso práctico titulado: **"Propagación *in vitro* y Cultivo en Invernadero de Variedades Exóticas de Jitomate"**, hago de su conocimiento que puede imprimir dicho documento y continuar con los trámites para la presentación de su examen de grado.

Sin otro particular me permito saludarle muy afectuosamente.

A T E N T A M E N T E
Aguascalientes, Ags., 19 de abril de 2013
"SE LUMEN PROFERRE"
EL DECANO SUSTITUTO

M. en C. JOSÉ DE JESÚS RUIZ GALLEGOS



c.c.p.- Archivo
JJRG,mjda

M. en C. José de Jesús Ruíz Gallegos
Decano del Centro de Ciencias Básicas
P R E S E N T E:

Aguascalientes, Ags., a 04 de abril de 2013

Estimado M. en C. Ruíz Gallegos:

Por este medio le comunico que el **Ing. OSCAR EDUARDO MEDINA CASTAÑEDA**, egresado de la Maestría en Ciencias en el área de Biotecnología Vegetal, ha concluido satisfactoriamente tanto su trabajo de tesis, como el escrito derivado del mismo. El título de su proyecto fue: "PROPAGACIÓN *In Vitro* Y CULTIVO EN INVERNADERO DE VARIEDADES EXÓTICAS DE JITOMATE".

Asimismo, le informo que después de revisar el escrito, así como las correcciones hechas al mismo, considero que ya se tiene una versión final satisfactoria y se puede proceder a su impresión definitiva y al examen de grado.

ATENTAMENTE



Dr. Eugenio Pérez Molphe Balch
Cotutor de la Tesis
Departamento de Química
Centro de Ciencias Básicas

M. en C. José de Jesús Ruíz Gallegos
Decano del Centro de Ciencias Básicas
P r e s e n t e:

Por este medio le comunico que he revisado la versión final del escrito de la tesis **"PROPAGACIÓN *in vitro* Y CULTIVO EN INVERNADERO DE VARIEDADES EXÓTICAS DE JITOMATE"** presentada por el alumno **Oscar Eduardo Medina Castañeda** como requisito para obtener el grado de Maestro en Ciencias en el área de Biotecnología Vegetal. A mi juicio, este documento contiene ya todas las correcciones solicitadas por un servidor al hacer la revisión del mismo. Por lo anterior, considero que se puede proceder ya a su impresión definitiva y a la programación del examen de grado.

ATENTAMENTE
"SE LUMEN PROFERRE"
Aguascalientes, Ags. A 19 de Abril de 2013



Dr. Francisco Morales Domínguez
Sinodal Designado para el Examen de Grado



M. en C. José de Jesús Ruíz Gallegos
Decano del Centro de Ciencias Básicas
P R E S E N T E:

Aguascalientes, Ags., a 04 de abril de 2013

Estimado M. en C. Ruíz Gallegos:

Por este medio le comunico que el **Ing. OSCAR EDUARDO MEDINA CASTAÑEDA**, egresado de la Maestría en Ciencias en el área de Biotecnología Vegetal, ha concluido satisfactoriamente tanto su trabajo de tesis, como el escrito derivado del mismo. El título de su proyecto fue: "PROPAGACIÓN *In Vitro* Y CULTIVO EN INVERNADERO DE VARIEDADES EXÓTICAS DE Jitomate".

Asimismo, le informo que después de revisar el escrito, así como las correcciones hechas al mismo, considero que ya se tiene una versión final satisfactoria y se puede proceder a su impresión definitiva y al examen de grado.

A T E N T A M E N T E

A handwritten signature in dark ink, appearing to read 'Otilio Vázquez Martínez'.

MC Otilio Vázquez Martínez
Cotutor de la Tesis
Departamento de Fitotecnia
Centro de Ciencias Agropecuarias

AGRADECIMIENTOS

Al **CONACYT** por la beca 244847 otorgada, con la cual poder llevar a culmen la presente investigación.

A la **UNIVERSIDAD AUTONOMA DE AGUASCALIENTES** por el apoyo y facilidades para el desarrollo de maestría y tesis en particular.

A todo el personal del **POSGRADO, ACADEMICO, ADMINISTRATIVO y MANUAL**, por todas las enseñanzas que me dieron, pero sobre todo por hacer la estancia en la facultad más llevadera, amena y gratificante.

A mi **CUERPO TUTORAL**, al Dr. Eugenio Pérez por todo el apoyo y disposición del tiempo, recurso y conocimiento brindado; al Dr. Francisco Morales por todas las correcciones y orientación para el desarrollo de este escrito; y muy en particular al M. en C. Otilio Vázquez por todo el apoyo brindado ya desde hace tantos años, por abrirme las puertas del laboratorio y brindarme todo el tiempo, material, personal para el desarrollo de la investigación. Por todo el tiempo, paciencia y confianza que durante tanto tiempo me brindo, tanto dentro como fuera de las paredes de la institución.

DEDICATORIAS

Dedico este trabajo a todos aquellos que con su amor, apoyo y conocimiento hicieron posible la realización del mismo, absurdo sería intentar nombrar a todas las personas que a lo largo de esta investigación y de la vida misma me han dejado una enseñanza por la cual intentar agradecer en este apartado, mas sin embargo sirve como un pequeño tributo por todos los aquí nombrados y los que por omisión y error de mi parte faltaron.

A mis padres: Que con mucho cariño, esfuerzo, perseverancia y fe me han apoyado a lo largo del camino. Por su comprensión y enseñanzas en la escuela de la vida. (Sergio y Luz)

A mis hermanos: Porque siempre estuvieron ahí como ejemplo y con una palabra de aliento cuando más se necesita. (Sergio, Sandra y Gustavo)

A los colegas del laboratorio: Andrés, Sandra, Rodrigo, Alfredo, Rubén, Adolfo por hacer más amena la estancia en “la posta”, por todos los gratos momentos juntos.

A los compañeros de maestría: Muy en particular a Fernando, Juan, Shantal, Flor, Gwendolyn, Noemí y Sandrita por su gran apoyo a lo largo de estos años.

A la banda agronómica: Liz, Gus, Checo, Ana, Fer, Robert, David, todos ellos ingenieros y grandes amigos, por su constante y desinteresado apoyo en el desarrollo de esta investigación.

A mis amigos: Miguel (Panque), Jacobo (Nalgobin), Fernando (Topo), Alejandro (Cejas), Fabián (Parejota), Luis Fernando (Tocayo), Daniela (Dany), Gabriela (la loca), Guadalupe (lupita), Mayra (mi SAMI), Alejandra (la Güera), Karla (la compi). Por su invaluable amistad, GRACIAS!!!

A mis alumnos: Por hacer de mis días una agonía, pero sobre todo por llenarlos de vida, buena vibra y diversión.

Y a todos los que me faltaron por nombrar, una disculpa pero ustedes saben quiénes son y todo lo que significan para mí. ¿Y porque no? A la tuza y a la gorda por ser las que pagaron los trastos rotos todo este tiempo. Y a los que jamás creyeron en mí, gracias por ser el motivo para seguir adelante.

INDICE GENERAL

INDICE GENERAL.....	1
INDICE DE TABLAS	5
INDICE DE IMÁGENES	7
RESUMEN.....	8
ABSTRACT	9
1. INTRODUCCION.....	10
2. JUSTIFICACIÓN.....	11
3. OBJETIVOS.....	12
3.1 OBJETIVOS GENERALES:.....	12
3.2 OBJETIVOS PARTICULARES:	12
4. HIPOTESIS	13
5. ANTECEDENTES.....	14
5.1 GENERALIDADES DEL JITOMATE	14
5.1.2 Origen.....	15
5.1.3 Taxonomía y morfología.....	15
5.1.4 Importancia económica de la producción de jitomate en México	16
5.1.5 Fisiología del jitomate	17
5.1.6 Morfología del fruto	18
5.2 CULTIVO DE TEJIDOS VEGETALES	19
5.2.2 Aspectos generales del cultivo de tejidos vegetales.....	20
5.3 PRODUCCIÓN DE JITOMATE <i>in vitro</i>	22
5.3.2 Empleo de fitohormonas como inductores de brotación lateral	23
5.4 AGRICULTURA PROTEGIDA	24
5.4.2 Trasplante	27
5.4.3 Condiciones climáticas	27
5.4.4 Condiciones edáficas.....	27
5.4.5 Nutrición mineral.....	28
5.4.6 Manejo cultural.....	29
5.4.7 Evaluación del rendimiento del cultivo en invernadero	30
6. METODOLOGIA.....	31
6.1 CULTIVO <i>in vitro</i>: ESTABLECIMIENTO DE CULTIVO ASÉPTICO DE DIFERENTES VARIEDADES DE JITOMATE.....	31

6.1.1 Definición de un sistema de desinfección de semillas para su establecimiento en condiciones de asepsia.....	31
6.1.2 Definición de un medio de cultivo apropiado para el establecimiento de las variedades a evaluar en particular.....	31
6.1.3 Establecimiento de cultivos asépticos a partir el sub-cultivo de segmentos nodales.....	32
6.2 DESARROLLO DE SISTEMA PARA LA PROPAGACIÓN <i>in vitro</i> DE LAS VARIEDADES SELECCIONADAS.	33
6.2.1 Prueba de distintas citocininas y sus concentraciones a fin de inducir brotación lateral en los cultivos establecidos.....	33
6.2.2 Inducción de brotación y enraizado previo a su aclimatación <i>ex vitro</i>	33
6.2.3 Aclimatación <i>ex vitro</i> de ejemplares a establecer en invernadero.	34
6.3 EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO EN INVERNADERO BAJO CULTIVO HIDROPÓNICO DE AL MENOS 5 DE LAS VARIEDADES PROPAGADAS <i>in vitro</i>	35
6.3.1 Establecimiento del cultivo en invernadero de plántulas propagadas <i>in vitro</i> y propagadas a partir de semillas, fertirrigadas mediante un sistema semi hidropónico	35
6.3.2 Evaluación del crecimiento de las plantas cultivadas y de sus frutos, dada la técnica de multiplicación (<i>in vitro</i> /semilla) bajo condiciones de invernadero, en un sistema semi-hidroponico.	36
6.3.3 Fertirriego.....	36
6.3.4 Tratamiento fitosanitario	37
6.3.5 Manejo cultural (podas y deshojes)	38
7. RESULTADOS	39
7.1 ANÁLISIS DE LOS DATOS	39
Tabla 1. Abreviaturas de las diferentes variedades de jitomate evaluadas en la investigación.....	39
7.2 DESINFECCIÓN Y ESTABLECIMIENTO DE CULTIVOS <i>in vitro</i>.....	40
Tabla 2. Efecto de la técnica de desinfección y, la germinación en semillas de diferentes variedades de jitomate, después de 4 semanas de incubación <i>in vitro</i>	40
7.3 EFECTO DE DISTINTAS FORMULACIONES DE MEDIO NUTRITIVO PARA EL ESTABLECIMIENTO <i>IN VITRO</i> DE CULTIVOS, A PARTIR DE SEGMENTOS NODALES.	41
Tabla 3. Efecto de las formulaciones del medio nutritivo sobre la brotación de segmentos nodales de distintas variedades de tomates.....	41
7.4 MULTIPLICACIÓN.....	43
7.4.1 Cinetina	43

Tabla 4- Efecto de la concentración de Cinetina sobre la brotación y el crecimiento de los brotes laterales generados <i>in vitro</i> sobre segmentos nodales de distintas variedades jitomate	44
7.4.2 Meta-Topolina	45
Tabla 5- Efecto de la concentración de Meta-topolina sobre la brotación y el crecimiento de los brotes laterales generados <i>in vitro</i> sobre segmentos nodales de distintas variedades jitomate	46
7.4.3 Tidiazurón	47
Tabla 6- Efecto de la concentración del Tidiazurón sobre la brotación y el crecimiento de los brotes laterales generados <i>in vitro</i> sobre segmentos nodales de distintas variedades jitomate	47
7.4.4 Benciladenina.....	48
Tabla 7. Efecto de la bencil adenina en la brotación de segmentos nodales de distintas variedades de jitomate.....	48
7.4.5 2iP	50
Tabla 8. Efecto del 2iP en la brotación de segmentos nodales.....	50
7.5.1 Efecto de las sales macronutrientes sobre el enraizamiento y de ápices <i>in vitro</i>	51
Tabla 9. Efecto de la concentración de macronutrientes sobre el porcentaje de enraizamiento y, el número de raíces desarrolladas <i>in vitro</i> a partir de segmentos apicales de distintas variedades de jitomate.....	51
7.5.2 Enraizamiento <i>in vitro</i> y directa en sustrato/aclimatación de plántulas.	52
Tabla 10. Efecto del método de trasplante/enraizamiento sobre la aclimatación y el establecimiento en sustrato de micro estacas de distintas variedades de jitomate	54
7.6 ESTABLECIMIENTO DE CULTIVOS EN INVERNADERO Y EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO.	55
Tabla 11. Efecto de la técnica de propagación de las plántulas de distintas variedades de jitomate sobre el crecimiento y el diámetro de los tallos en un cultivo semi-hidropónico, bajo condiciones de invernadero, después de 5 semanas del trasplante.	56
Tabla 12: Efecto de la técnica de propagación de las plántulas de distintas variedades de jitomate sobre el crecimiento de los frutos, bajo condiciones de invernadero en un cultivo semi-hidropónico	57
8 DISCUSIONES	60
8.1 DEFINICIÓN DE UN SISTEMA DE DESINFECCIÓN DE SEMILLAS PARA SU ESTABLECIMIENTO EN CONDICIONES DE ASEPSIA	60
8.2 Definición de un medio de cultivo apropiado para el establecimiento de las variedades a evaluar en particular.	60

8.3 Establecimiento de cultivos asépticos a partir el sub-cultivo de segmentos nodales	61
8.4 INDUCCIÓN DE LA BROTAÇÃO Y ENRAIZADO PREVIO A SU ACLIMATACIÓN <i>ex vitro</i>.	62
8.5 EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO EN INVERNADERO BAJO CULTIVO SEMI HIDROPÓNICO	63
9. CONCLUSIONES	64
10. BIBLIOGRAFIA	65
11. ANEXOS	70
ANEXO A. CARACTERÍSTICAS DE LAS VARIEDADES UTILIZADAS EN LA INVESTIGACIÓN.	70
Tabla. Características de las variedades de jitomate empleadas.....	70
ANEXO B. FORMULACIONES NUTRITIVAS PARA CULTIVO <i>in vitro</i>	74
Tabla. Formulación de sales nutritivas y vitaminas empleadas para la formulación de diferentes medios	74
ANEXO C. FORMULACION NUTRITIVA EN meq·L⁻¹ PARA CULTIVO DE JITOMATE EN INVERNADERO	75
Tabla: Aporte de aniones y cationes en meq·L ⁻¹ de acuerdo a la etapa fenológica del cultivo	75
ANEXO D. FORMULACION DE SALES MINERALES PARA CULTIVO DE JITOMATE EN INVERNADERO	76
Tabla: Aporte en gramos o mililitros de diferentes sales minerales, como formulación nutritiva para desarrollo de jitomate en invernadero de acuerdo a la etapa fenológica del cultivo	76

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Abreviaturas de las diferentes variedades de jitomate evaluadas en la investigación.	39
Tabla 2. Efecto de la técnica de desinfección y, la germinación en semillas de diferentes variedades de jitomate, después de 4 semanas de incubación <i>in vitro</i> .	40
Tabla 3. Efecto de las formulaciones del medio nutritivo sobre la brotación de segmentos nodales de distintas variedades de tomates.	41
Tabla 4. Efecto de la concentración de cinetina sobre la brotación y el crecimiento de los brotes laterales generados <i>in vitro</i> sobre segmentos nodales de distintas variedades jitomate	44
Tabla 5. Efecto de la concentración de meta-topolina sobre la brotación y el crecimiento de los brotes laterales generados <i>in vitro</i> sobre segmentos nodales de distintas variedades jitomate	46
Tabla 6. Efecto de la concentración del tidiazurón sobre la brotación y el crecimiento de los brotes laterales generados <i>in vitro</i> sobre segmentos nodales de distintas variedades jitomate	47
Tabla 7. Efecto de la bencil adenina en la brotación de segmentos nodales de distintas variedades de jitomate.	48
Tabla 8. Efecto del 2ip en la brotación de segmentos nodales.	50
Tabla 9. Efecto de la concentración de macronutrientes sobre el porcentaje de enraizamiento y, el número de raíces desarrolladas <i>in vitro</i> a partir de segmentos apicales de distintas variedades de jitomate.	51
Tabla 10. Efecto del método de transplante/enraizamiento sobre la aclimatación y el establecimiento en sustrato de micro estacas de distintas variedades de jitomate	54

Tabla 11. Efecto de la técnica de propagación de las plántulas de distintas variedades de jitomate sobre el crecimiento y el diámetro de los tallos en un cultivo semi-hidropónico, bajo condiciones de invernadero, después de 5 semanas del trasplante.	56
Tabla 12. Efecto de la técnica de propagación de las plántulas de distintas variedades de jitomate sobre el crecimiento de los frutos, bajo condiciones de invernadero en un cultivo semi-hidropónico	57
Tabla 13. Características de las variedades de jitomate empleadas	70
Tabla 14. Formulación de sales nutritivas y vitaminas empleadas para la formulación de diferentes medios	74
Tabla15. Aporte de aniones y cationes en meq·l ⁻¹ de acuerdo a la etapa fenológica del cultivo	75
Tabla 16. Aporte en gramos o mililitros de diferentes sales minerales, como formulación nutritiva para desarrollo de jitomate en invernadero de acuerdo a la etapa fenológica del cultivo	76

INDICE DE IMÁGENES

Figura 1. Brotes laterales de tomate a partir de segmentos nodales crecidos sobre medio ms, después de 4 semanas de cultivo <i>in vitro</i>	42
Figura 2. Efecto de la cinetina sobre la elongación de brotes laterales a partir de segmentos nodales de jitomate.	43
Figura 3. Efecto de la meta-topolina sobre la elongación de los brotes laterales desarrollados en segmentos nodales cultivados sobre medio ms.	45
Figura 4. Efecto la concentración de benciladenina en la elongación de brotes a partir de segmentos nodales de jitomate.....	49
Figura 5. Efecto de diferentes concentraciones de 2ip en la formación de de brotes a partir de segmentos nodales de jitomate.....	49
Figura 6. Enraizado y aclimatación de los brotes.....	53
Figura 7. Cultivo semi-hidroponico de variedades de polinizacion abierta de jitomate bajo condiciones de invernadero.	55
Figura 8. Frutos de las variedades micropropagadas <i>in vitro</i> y se cultivadas en un sistema semi-hidropónico, bajo condiciones de invernadero.	58

RESUMEN

Se desarrolló un sistema para la propagación *in vitro* de 8 diferentes variedades de jitomate de polinización abierta y características particulares, que les confieren la cualidad de ser consideradas exóticas, y su posterior establecimiento en invernadero. El método de desinfección de semillas empleado fue eficiente en todos los casos ya que no hubo pérdidas por contaminación superficial.

Se evaluaron tres medios nutritivos los cuales rindieron efectos similares, sin embargo, aunque no se midió el tamaño de las hojas, éstas crecieron notablemente mejor en el medio MS, en comparación con los otros dos medios (N&N y Reeves). Diferentes concentraciones y tipos de citocininas fueron evaluados para probar su efecto en la brotación axilar, no obstante se observó que en la mayoría de los casos no se indujo un efecto de brotación múltiple, aunque la brotación se homogenizó en comparación con los tratamientos que carecían de algún regulador, dando paso así aun sistema nodal simple de multiplicación.

Se desarrolló un método de enraizado y aclimatación mediante el trasplante directo de ápices sobre un sustrato comercial. El efecto evitó alternativamente la etapa de enraizamiento *in vitro*. En las plantas cultivadas en invernadero no se observó una diferencia en el crecimiento de las plantas obtenidas *in vitro* comparado con el de las propagadas por semillas. Sin embargo, se observó que para la mayoría de las variedades, las plantas propagadas *in vitro* produjeron frutos mayores y con mayor peso fresco, en comparación con las plantas propagadas por semillas.

ABSTRACT

We developed a system for the in vitro propagation of different open pollinated tomato varieties that have some characteristics that give them the quality of being considered exotic, and his subsequent establishment in the greenhouse. The seed disinfection method used was efficient in all cases because hasn't loss by surface contamination.

The three nutrient media yielded similar effects, however, although the size of the sheets is not measured, they grew significantly better in the MS medium, compared with the other two mediums (N & N and Reeves). Different types and concentrations of cytokinins were evaluated to test its effect on axillary sprouting; however it was observed that in most cases did not induce multiple sprouting compared with treatments without any regulator, thus developing a simple method of nodal multiplication.

For the method of rooting and acclimatization was performed direct transplantation of shoots on a commercial substrate. This want avoided the rooting stage in vitro. Plants grown in vitro compared to the propagated by seeds no show differences on greenhouse plant development culture. However, it was observed that for most varieties in vitro propagated plants produced more weight, compared with plants propagated by seeds.

1. INTRODUCCION

El cultivo de especies hortícolas desde el inicio de tal actividad se ha posicionado como de gran importancia económica y social dentro del sector agrícola, en comparación de otras especies cultivadas como lo son los cereales o los forrajes (Madero, 2005).

En México, la producción de jitomate se da a menor o mayor escala en prácticamente todos los estados, siendo en la región del pacífico donde se practica a gran escala., En el centro predominan las explotaciones con gran inversión en infraestructura, y en el sur básicamente dedicado al autoconsumo o producción de traspatio, esto en términos muy generales, ya que en las 3 zonas antes mencionadas se practican los 3 tipos de producción indistintamente de la región (SAGARPA, 2012).

En relación con el contexto antes mencionado, los costos de producción tienden a ser elevados sobre todo en los estados o explotaciones en donde el empleo de variedades híbridas es primordial para sopesar algunos de los embates causados por el ataque de agentes entomológicos o fitopatógenos, así como por las cualidades mismas de la variedad, es por esto que el empleo de variedades tradicionales de polinización abierta se presume como una alternativa a dichos ataques dada la resistencia nata que muchas de estas suelen tener.

Dicho lo anterior, la propagación vegetativa o asexual podría ser un sistema idóneo para la producción masiva de plantas con características deseables en el contexto agrícola, siendo así que en la actualidad con el empleo de innumerables herramientas biotecnológicas es posible dicha propagación bajo sistemas artificiales de cultivo (Madero, 2005).

Acorde con lo planteado por Mateo en 1990 y posteriormente citado por Madero en el 2005, el empleo de los fitoreguladores en la producción *in vitro* es de suma importancia ya que juegan un papel muy importante en el crecimiento y desarrollo de los cultivos ya que en la mayoría de los casos la ausencia de los mismos imposibilita el desarrollo de los mismos, ya que aun en pequeñas cantidades estos estimulan, inhiben o modifican algún proceso fisiológico dentro de la planta.

La micropropagación es pues el incremento en el número de individuos cultivados bajo condiciones de asepsia, esto a partir de la fragmentación y posterior desarrollo en medio artificial de los mismos. Y aunque en términos generales tiende a ser un proceso económicamente elevado, la posibilidad de obtener plantas idénticas, libres de patógeno y sobretodo disponibles todo el año es una de las principales justificaciones del empleo de esta técnica (Lozaya, 1985).

Con la propagación de jitomate de variedades exóticas se pretende la obtención de un número considerable de plantas a fin de determinar cuál es el tipo y concentración que pudiera ser considerado idóneo para la producción masiva de los mismos, y una vez realizado esto emplearlos para el enraizado, aclimatación y establecimiento en condiciones de invernadero para así poder comparar diferentes tipos de plantas tanto obtenidas *in vitro* como de manera tradicional.

2. JUSTIFICACIÓN

Las principales limitantes que obstaculizan el desarrollo de los cultivos de jitomate, y que forman la base para el desarrollo de la presente investigación son:

La falta de acceso a semilla de libre polinización para producción, ya que el hecho de ser importada la hace más cara y menos accesible para muchos de los productores. Aunado a lo anterior, los derechos de propiedad sobre muchos de esos materiales genéticos imposibilita el desarrollo de cruces, cuando se trata de variedades comerciales (híbridos).

Debido a las condiciones agroclimáticas de la región, los problemas relacionados con los organismos fitopatógenos, principalmente aquellos que atacan a las raíces, son una problemática generalizada, ya que no existe una metodología propia para su control y erradicación, siendo este una de las grandes limitantes para que más productores se incorporen a la producción de este cultivo, razón por la cual el empleo de invernaderos y sustratos artificiales es cada vez más común para la producción de esta hortaliza. Y dado que en teoría el empleo de cultivos asépticos para su establecimiento en campo ayuda a sopesar en gran medida el problema de los patógenos ligados a la semilla entre otros, es por ello que se promueve esta tecnología para la producción de las plántulas *in vitro*.

Es por lo anterior que la presente investigación se justifica a partir de la búsqueda de una metodología de producción que se pretende sea acorde a las necesidades de la región, mediante la implementación de materiales vegetales con valor agronómico así como de aquellos que con su consumo promuevan el gusto y la apreciación por las variedades en cuanto al sabor, forma, color etc. características propias de los cultivares exóticos de polinización libre.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVOS GENERALES:

De acuerdo a la etapa cronológica del proyecto, se establecieron los siguientes objetivos generales:

Establecimiento de cultivo *in vitro* de al menos 7 variedades diferentes de jitomate.

Desarrollo de sistema para la propagación *in vitro* de las variedades seleccionadas.

Evaluación del crecimiento en invernadero bajo cultivo hidropónico de al menos 5 de las variedades propagadas *in vitro*.

3.2 OBJETIVOS PARTICULARES:

Establecimiento de cultivo aséptico de al menos 7 variedades diferentes de jitomate

- Definir un sistema de desinfección de semillas para su establecimiento en condiciones de asepsia.
- Definir un medio de cultivo apropiado para el establecimiento de las variedades a evaluar en particular.
- Establecer cultivos asépticos a partir el sub-cultivo de segmentos nodales.

Desarrollo de sistema para la propagación *in vitro* de las variedades seleccionadas.

- Probar distintas citocininas y sus concentraciones a fin de inducir brotación lateral en los cultivos establecidos.
- Inducir brotación y enraizado previo a su aclimatación *ex vitro*.
- Llevar a cabo aclimatación *ex vitro* de ejemplares a establecer en invernadero.

Evaluación del crecimiento en invernadero bajo cultivo hidropónico de al menos 5 de las variedades propagadas *in vitro*.

- Establecer el cultivo en invernadero de plántulas propagadas *in vitro* y propagadas a partir de semillas, fertirrigadas mediante un sistema semi hidropónico.
- Evaluar el crecimiento de las plantas cultivadas y de sus frutos, dada la técnica de multiplicación (*in vitro*/semilla) bajo condiciones de invernadero, en un sistema semi-hidroponico.

4. HIPOTESIS

De acuerdo a los objetivos planteados anteriormente y como base para el desarrollo de la metodología de esta investigación, las hipótesis que se plantearon fueron las siguientes.

- En segmentos nodales aislados por corte y establecidos *in vitro*, la aplicación de citocininas pueden inhibir la dominancia apical y fomentar la brotación lateral de yemas en distintas variedades de jitomate de polinización abierta.
- El crecimiento de las plantas micropropagadas *in vitro* y cultivadas en condiciones de invernadero es similar al de las plantas propagadas por semilla.

5. ANTECEDENTES

5.1 GENERALIDADES DEL JITOMATE

El cultivo del jitomate ocupa un lugar muy importante entre las hortalizas producidas en el mundo, dado que es un producto muy apetecible así como una importante materia prima para la industria de la transformación. Según la finalidad del producto se pueden diferenciar fines como el consumo en fresco, deshidratado o procesado (Van Haeff, 1981).

El jitomate es uno de los alimentos más importantes en la dieta del orbe, una de las hortalizas de mayor producción, no tanto por su valor nutricional, sino por la importancia culinaria y económica que este cultivo representa (Santiago *et. al.*, 1998).

Es el tomate la segunda hortaliza con más producción, únicamente antecedida por la papa que ostenta el primer lugar tanto en producción como consumo (FAO, 1997). Lo anterior nos da una idea de la relevancia que tiene este vegetal en cuanto a su consumo a nivel mundial.

El incremento anual de la producción en los últimos años se debe principalmente al aumento en el rendimiento. Sin embargo los índices de producción no son los mismos, por mencionar algo, en Norteamérica, la producción promedia las 60 ton/ha, mientras que en el resto del continente la producción asciende a solo 20 ton/ha en promedio (FAO, 1997). Así mismo el consumo per cápita es hasta 4 veces mayor en los primeros países (FAO, 1997).

En relación a lo antes mencionado y retomando lo propuesto por León y Arosamena en 1980, la actividad productiva de este cultivo es de relevancia para la nación, ya que genera un alto número de divisas por concepto de exportación primordialmente a los EUA, utiliza un gran número de jornales de mano de obra y en consecuencia una derrama económica considerable por este concepto y por el de la compra de insumos inclusive.

5.1.2 Origen

El tomate, jitomate, tomate rojo, pomodoro etc. ha sido objeto de duda en cuanto a su región de origen y domesticación, dada la vasta existencia de restos fósiles, así como de variedades silvestres en muchas regiones, lo que no cabe duda es que es originario de América del sur, entre las regiones de Chile, Ecuador y Colombia, pero su domesticación se inició en el sur de México y norte de Guatemala de donde obtuvo el nombre de *tomatl* que nos recuerda mucho a su nombre actual (CORPOICA, 2007).

Fue a partir de la conquista de América que este cultivo se difundió hacia Europa, principalmente España e Italia, en donde su uso, colores y formas se diversificó enormemente. A partir del intercambio comercial de estos últimos, fue de cómo el jitomate se diseminó a lo largo del planeta, siendo en 1900 cuando se extendió en el orbe su consumo como hortaliza fresca (Van Haeff, 1981).

5.1.3 Taxonomía y morfología

Botánicamente se clasifica el tomate como *Lycopersicon esculentum* Mill. Perteneciente este género a la familia de las solanáceas, debido a la hibridación y selección de la cual ha sido objeto se reconocen los siguientes tipos botánicos.

- *Comone*: jitomate común
- *Grandifolium*: jitomate de hoja de papa
- *Validium*: jitomate erecto o arbustivo
- *Cerasiforme*: jitomate tipo cereza
- *Pyriforme*: jitomate tipo pera

-Familia: Solanáceas.

-Especie: *Lycopersicon esculentum* Mill.

-Planta: De tipo perenne de porte arbustivo que se cultiva como anual. Puede desarrollarse de forma rastrera, semirrecta o erecta. Existen variedades de crecimiento limitado e ilimitado. Las plantas determinadas o limitadas son del tipo arbustivo de porte bajo y de producción precoz, se caracterizan por la formación de las inflorescencias en el extremo del ápice.

Las plantas de crecimiento indeterminado o ilimitado crecen hasta alturas de 2 metros, o más, según el tipo de labores y cuidado que se les brinde, las inflorescencias son laterales y alternadas.

-Sistema radicular: raíz principal grande y débil (mayor a 1m), raíces secundarias numerosas y potentes, presencia de raíces adventicias. Sin embargo con el sistema de trasplante el sistema radicular tiende a ser fibroso con numerosas raíces laterales fuertes y medianamente profundas (40 cm en promedio).

-Hoja: compuesta e imparipinnada, con foliolos peciolados, lobulados y con borde dentado en número de 7 a 9 y recubiertos de pelos glandulares. Las hojas se disponen de forma alternativa sobre el tallo, son pubescentes.

-Flor: es perfecta, regular. Consta de 5 o más sépalos, igual número de pétalos de color amarillo y dispuestos de forma helicoidal, mismo número de estambres soldados que se alternan con los pétalos y forman un cono estaminal que envuelve al gineceo, y de un ovario bi o plurilocular.

Fruto: El fruto es una baya. En las especies silvestres de tomate el fruto es bilocular, mientras que en las variedades cultivadas es bilocular o multilocular. Con formas, colores y tamaños muy variables. (Lukwill, 1943; Rick, 1990; Lester, 1991; Peralta, 2000).

5.1.4 Importancia económica de la producción de jitomate en México

Su trascendencia en el contexto económico del país reside en su importante aportación de divisas y en la generación de empleos en todas y cada una de las fases de la cadena agroalimentaria.

De acuerdo con estadísticas de SAGARPA (2012) la producción nacional de jitomate ha mostrado cambios importantes en los últimos años, con una reducción de la superficie de cultivo en Sinaloa, mientras que Baja California y Michoacán han mostrado un ligero incremento (Bojórquez, 2008).

En el año 2009 se cosecharon 52,383 hectáreas (SIAP, 2009). Lo anterior concuerda con lo mencionado por Santiago y colaboradores (1998), quienes hacen mención de que a lo largo de los años se cultivan superficies oscilantes entre 60.000 y 90.000 ha anuales, y a la vez con Leon y Arosamena quienes en 1980 proponían el estimado de 90,000 ha anuales en la década de los 80's con lo que se puede claramente observar que el número de hectáreas dedicadas anualmente a la producción de esta hortaliza es constante, siendo en la mayoría de los casos con rendimientos que varían entre las 8 y 60 toneladas, según el tipo y destino de la producción.

De acuerdo con la Junta Local de Sanidad Vegetal (JLSV) del Estado de Aguascalientes, órgano encargado del monitoreo y seguimiento de las parcelas hortícolas en el estado, para el ciclo P-V del 2009, se tuvo una superficie cosechada de 283 ha, lo cual habla de la importancia de esta hortaliza en el estado, posicionándola como la 2da de mayor producción, únicamente precedida por el chile (JLSV 2009).

En 2011, el tomate fue la hortaliza mexicana de mayor exportación hacia los Estados Unidos, éstas acumularon 1,800 millones de dólares, según datos de la Secretaría de Economía.

5.1.5 Fisiología del jitomate

El cultivo de tomate se desarrolla tanto en zonas templadas como cálidas, existiendo diversidad de técnicas culturales empleadas por los productores.

Los diversos procesos fisiológicos de la planta se verán influenciados en la mayoría de los casos por las condiciones del clima, del suelo y de las características genéticas de la variedad empleada.

Por generalidad desde el momento de la siembra hasta la emergencia transcurren entre 6 y 12 días dependiendo de la viabilidad de la semilla y las condiciones atmosféricas predominantes, siendo así que en días más fríos el letargo tiende a ser mayor.

La temperatura óptima para la germinación oscila entre los 20 y 25°C mientras que para el resto del cultivo es de entre 18 y 24°C, con una óptima de 22 y 16°C para el día y la noche respectivamente. Tomando muy en cuenta que por debajo o arriba de los parámetros mencionados la planta comienza a sufrir estrés, inferiores a los 8 y mayores a los 35°C causan detrimentos en la producción y en casos de plantas enfermas o mal nutridas la muerte, siendo 0° el punto de congelación del cultivo y por ende temperatura mínima letal del mismo.

De acuerdo a la precocidad del cultivo va desde los 70 hasta los 100 días después de trasplante para obtener la primera cosecha.

Requiere de una gran luminosidad para la acumulación de los pigmentos y coloración del fruto, mas sin embargo exposición directa del fruto al sol se puede traducir en una quemazón del mismo, por lo anterior es necesario una suficiente cobertura de follaje para la protección de los frutos y un balance adecuado del nutriente dentro de la planta.

Dado que es un cultivo que se adapta bien a los climas cálidos, es este último el más recomendable para su desarrollo, sin embargo, puede producirse con facilidad en zonas húmedas y desérticas inclusive, teniendo especial atención en la hidratación oportuna del mismo, un excelente drenaje, baja o nula cantidad de sales en el suelo o sustrato y en el caso de las zonas húmedas constante aireación para evitar la proliferación de enfermedades fungosas de las cuales es susceptible esta hortaliza.

Por último, para garantizar una mayor disposición de los nutrientes, un pH entre 5.6 y 7.0 es el óptimo para el cultivo.

5.1.6 Morfología del fruto

El fruto del tomate puede clasificarse botánicamente según el color de la piel, forma del fruto y la cantidad de celdas o lóculos que posee.

El fruto del tomate es de forma redonda y lisa en la mayoría de los casos, sin embargo los de forma lobular, achatada, asemejando forma de pera y ciruela son aceptados de acuerdo al fin y variedad del mismo.

El pericarpio o piel o cascara, es la capa carnosa más externa del fruto, siendo este de coloraciones muy diversos, existiendo el rojo (siendo este el más común), el anaranjado, amarillo, tonalidades de rosa, azul-violáceo y en casos especiales madurando en color verde aun.

La capa interna o placenta que es la comprendida entre el pericarpio y las paredes del ovario y semillas, es la parte más carnosa del fruto y suele dividirse en lóculos o celdas, que conforme mayor sea el número de estas, mayor es la calidad del fruto. Siendo así muy variados, desde 2 lóculos o bilocular hasta 20 inclusive más de los denominados multiloculares, siendo los de 4 a 6 los más comunes en las variedades cultivadas.

El tamaño del fruto es muy variado yendo desde los pocos gramos hasta el par de kilos en algunos casos y variedades especiales. Así mismo los diámetros del fruto son muy diversos, siendo de 9 a 10 lo más común para variedades de consumo en fresco.

5.2 CULTIVO DE TEJIDOS VEGETALES

El cultivo de tejido vegetal fue desarrollado desde 1950, a partir del trabajo de numerosos grupos de investigadores. En la actualidad, se consolida como una importante herramienta para la producción en masa de cultivos axénicos y asépticos según sea el caso a partir de diferentes órganos y plantas, con fines agrícolas, forestales, ornato etc.

El cultivo de tejido vegetales (CTV) comienza con la transferencia de un sitio de crecimiento –principalmente meristemas- semillas, bulbos o cualquier estructura vegetal que se desee propagar, todo en condiciones estrictamente higiénicas y estériles, con seguridad y limpieza a un recipiente estéril con medio nutritivo adecuado para el cultivar (Mroginski *et. al.*, 2004).

Estos tejidos *in vitro* estarán así dentro de una “micro-atmosfera” estéril dentro de un recipiente de vidrio o plástico para ser protegidos del medio exterior no estéril debido a que cualquier microorganismo que logre la entrada al mismo crecerá a una velocidad mucho más rápida que los tejidos vegetales y eventualmente colonizarán y matarán a los tejidos.

En cuanto al medio de cultivo, este puede ser en solución líquida, o bien en gel, mismos que habrán de poseer los elementos minerales nutritivos que son esenciales para el crecimiento vegetal, también posiblemente algunas vitaminas, azúcares como fuente de energía y en ciertos casos un coctel de hormonas vegetales que se conoce que controlan el crecimiento y desarrollo de estos tejidos particulares.

Así pues, el cultivo de tejidos puede ser definido como un conjunto muy heterogéneo de técnicas que presentan en común el hecho de que un explante se cultiva asépticamente en un medio artificial de composición química definida y se incuba en condiciones ambientales controladas.

Generalmente es común dividir las técnicas del cultivo de tejidos en dos grandes grupos: cultivos en medios semisólidos y cultivos en medios líquidos.

5.2.2 Aspectos generales del cultivo de tejidos vegetales

a) Asepsia

Uno de los problemas más comunes en los laboratorios de CTV es la contaminación de los cultivos por medio de microorganismos. Siendo las principales causas de contaminación, los microorganismos presentes en el interior o exterior del tejido, así como las fallas los procedimientos de cultivo (Abdelnour-Esquivel, 1994).

Para evitar y/o minimizar las contaminaciones de los cultivos con microorganismos es necesario conocer el material vegetal con que se trabaja y los posibles contaminantes; Realizar una adecuada preparación de la planta dadora de explantes, eliminando patógenos y eventuales microorganismos endófitos. Y por último proceder a la desinfección superficial de los explantes

Si bien no existe un método universal para la desinfección de los explantes, el empleo de alcohol, hipoclorito de sodio, cloruro de mercurio y agua destilada en diferentes concentraciones y lapsos de tiempo ha resultado ser una práctica muy difundida y eficiente, así mismo añadiéndose algún tensoactivo como *Tween 20* los resultados son más eficaces (Webster, 1966).

En los casos es que se obtengan plantas a partir de semillas, son estas las que habrán de desinfectarse. Procurando en todos los casos que así los tejidos propios de la semilla como el embrión mismo se conserven de la mejor manera posible (Abdelnour-Esquivel, 1994).

b) Explante

De acuerdo a Mroginski y colaboradores (2004), para la elección de explantes ideales se habrá de tomar ciertas precauciones o condiciones especiales como son:

- Objetivo del cultivo: determinar cuál será la finalidad del cultivo a fin de poder determinar el órgano ideal para el mejor desarrollo del mismo
- Posible contaminación: dado que no todos los órganos están expuestos a la misma cantidad y variedad de contaminantes, es importante determinar y elegir la zona u órgano en donde potencialmente existan menos.
- Edad fisiológica: es sabido que los éxitos en la morfogénesis se da cuanto menor es la edad del cultivo.
- Tamaño: a mayor tamaño del explante es más factible su proliferación, aunque es más propenso a la contaminación
- Época del año: muy importante en las especies que presentan ciertos tipos de dormancia.

c) Medio de cultivo

Un medio de cultivo puede ser definido como una formulación de sales inorgánicas y compuestos orgánicos requeridos para la nutrición y manipulación de los cultivos. Para George (1987) la variabilidad de los medios es tanta como la de los cultivos y el uso que se le dé a los mismos. Aunque básicamente todos incluyen al menos alguno de los siguientes elementos:

- Una fuente de carbono
- Nutrientes minerales
- Sustancias vitamínicas
- Sustancias reguladoras del crecimiento
- Agente gelificante (en el caso de medios semisólidos)
- Otros compuestos

d) Técnica de propagación

La técnica de propagación dependerá del sistema que se quiere utilizar. Si lo que se quiere explotar es la brotación de meristemas, los ápices terminales y los segmentos nodales de ramas jóvenes constituyen excelentes explantes, entendiéndose así que muchas veces dentro de una misma especie las reacciones de las mismas variedades o ejemplares suelen ser muy diferentes (Litz 1984; Abdelnour-Esquivel, 1994).

En cambio, si se pretende propagar mediante el empleo de semillas sintéticas el explante original deberá posibilitar la inducción de la embriogénesis somática, en este caso, la utilización de embriones inmaduros u hojas, suelen ser frecuentes como explantes.

Las principales aplicaciones de la técnica de cultivo de células, tejidos y órganos vegetales son en los campos de la micro propagación, obtención de plantas libres de patógenos, preservación de germoplasma, mejoramiento genético, biosíntesis de metabolitos e investigación básica en áreas como la genética, fisiología y bioquímica (Fowler 1987; Carpita y McCann 2000; Calva 2005).

e) Aclimatación de las plantas generadas *in vitro*

Durante el período de incubación, los cultivos son expuestos a condiciones ambientales distintas al ambiente externo.

El periodo de adaptación entre el cultivo *in vitro* y su proliferación en ambiente externo es lo que se considera como fase o etapa de aclimatación. Es una etapa en la que maduran tanto la cutícula como el sistema estomático, se comienza a llevar a cabo la foto-respiración y asimilación de nutrientes por parte de la raíz fundamentalmente, es por lo anterior que se debe de tomar un riguroso control sobre el sustrato empleado, la solución nutritiva, así como las condiciones medioambientales como lo son, luz, humedad, viento, de tal manera que el proceso de adaptación sea lo más paulatino posible (Mroginski *et. al.*, 2004).

5.3 PRODUCCIÓN DE JITOMATE *in vitro*

En la actualidad no existe un protocolo universal para la regeneración del jitomate *in vitro*, debido a que esta depende del cultivar, de la concentración y tipo de reguladores de crecimiento en el medio de cultivo, de las condiciones fisiológicas del cultivo madre donante, así como del tipo de explante seleccionado (Ramírez *et. al.*, 2009).

Aunque dada la versatilidad del cultivo, así como la trascendencia económica del mismo, la manipulación por medio de esta técnica es justificada (Evans 1989; Bhatia, 2004). Dada la naturaleza autógama del jitomate, el cultivo de tejidos se puede emplear para la propagación de cultivares de alto valor comercial que convencionalmente serían obtenidos a partir de semillas. Por lo cual es plausible el desarrollo de protocolos para la propagación masiva de plántulas, pretendiendo reducir los costos por plántula y en ciertos casos ayudar a mejorar los sistemas de resistencia a plagas y enfermedades (Bhatia, 2004).

El medio universal por excelencia y que más ampliamente es empleado para la regeneración del jitomate es el MS, aunque la adición de algún tipo de vitaminas, fitoreguladores etc., dependerá del interés del investigador o de los resultados que espere obtener.

Una de las técnicas más empleada es la producción de callo, dado que la obtención de plantas se da en un lapso de tiempo muy corto, de igual manera, la obtención de explantes a partir de cotiledones es una práctica muy difundida (Ramírez *et. al.*, 2009), además del cultivo de folíolos que en apariencia es más sencillo y con menor riesgo de mutagénesis (Zorzoli, 1998).

En el cultivo *in vitro* de jitomate se suele realizarla propagación de plantas a partir de yemas y brotes jóvenes puesto que las mutaciones espontáneas que se pueden presentar son mínimas, ya que estos derivan directamente de meristemos organizados y están sujetos a bajos niveles de variación (García, 1999; Castilla, 2005).

En relación a lo anterior se considera yema al rudimento de un vástago, que se forma habitualmente en las axilas de las hojas y suele estar protegida por una serie de hojas, mientras que brote es el término usual con que se designa el vástago en estado de desarrollo, a partir de la yema hasta que ha terminado su crecimiento (Castilla, 2005).

5.3.2 Empleo de fitohormonas como inductores de brotación lateral

Las hormonas vegetales o fitohormonas son moléculas que actúan sobre el sistema genético, reprimiendo o activando genes que a su vez sintetizan moléculas que aceleran o inhiben aspectos del desarrollo. Así actúan auxinas, giberelinas, citocininas, ac. abscisico y etileno, así como algunos otros grupos estudiados como es el caso de las poliaminas, brasinoesteroides entre otros (Rojas, 1987).

Existen moléculas sintéticas similares a las fitohormonas en estructura y función: los fitoregulares hormonales. Otros productos son diferentes a las fitohormonas, pero no obstante determinan respuestas en el desarrollo vegetal; son los fitoreguladores no hormonales, muy a menudo sintetizados en muchos de los casos a partir de algas marinas (Silva, 2001).

Basándose en lo anterior se conoce que la relación auxina/citocinina regula la morfogénesis en cultivos de tejidos. Alterando ligeramente las concentraciones relativas de auxina y citocinina, los investigadores han podido modificar el desarrollo de las células indiferenciadas de los cultivos de tejidos. Una concentración más o menos igual de las dos hormonas, hace que las células sigan indiferenciadas, formando masas de tejido llamadas callos. Cuando la concentración de auxina es superior, el tejido indiferenciado organiza raíces. Con una concentración superior de citocinina, se forman yemas. Con un cuidadoso equilibrio de las dos hormonas se puede producir raíces y yemas, y por lo tanto, una plantita incipiente.

Se denota así, que la interacción de los reguladores como el AIA (Ácido Indol Acético), en numerosas especies vegetales es notoria, obteniendo buenos resultados en cuanto a elongación del explante, densidad de raíz e inhibición de callo (Jardan *et al.*, 2010).

La adición de algunas fitohormonas generalmente favorece el proceso de organogénesis. Las citocininas más utilizadas son BA (benciladenina), CIN (cinetina), ZEA (Zeatina), 2ip (6-y, y-dimetilalilaminopurina) y TDZ (Thidiazuron). Los tipos de reguladores, sus combinaciones y rangos de concentraciones deben ser optimizados para cada especie, genotipo y etapa de multiplicación determinada (Olmos, *et al.*, 2010). Dado que estas son un grupo más reducido de hormonas que deben su nombre a su función (citocinesis) y que en conjunto con las auxinas estimulan la división celular.

5.4 AGRICULTURA PROTEGIDA

El tomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill), es considerado como una de las hortalizas de mayor importancia en muchos países del mundo, por el sinnúmero de subproductos que se obtiene de él, y las divisas que aporta; este fenómeno ha originado la incorporación de vastas extensiones de tierra al cultivo del tomate, y la necesidad de utilizar las tierras hasta ahora consideradas marginales para el cultivo, debido a las condiciones climáticas adversas (Santiago *et. al.*, 1998).

En relación a lo anterior, Nuñez (1988) describió las ventajas principales que se tienen con el uso de invernaderos:

- Se tiene precocidad en cosechas,
- Aumento del rendimiento,
- Permite obtener cosechas fuera de época,
- Se obtiene frutos de mayor calidad,
- Ahorro de agua,
- Mejor control de plagas y enfermedades,
- Siembra de variedades selectas con rendimiento máximos,
- La posibilidad de obtener dos o tres cosechas al año.

Los invernaderos se utilizan para asegurar la producción y calidad de los cultivos, ya que en campo abierto es muy difícil mantener los cultivos de una manera perfecta a lo largo de todo el año. El concepto de cultivos bajo invernadero representa el paso de producción extensiva de tomate a producción intensiva. Para ello, las plantas han de reunir condiciones óptimas para el desarrollo del cultivo. Los controles de temperatura, humedad relativa, corrientes de aire y composición atmosférica son esenciales, como lo son, además, el control del agua y de los fertilizantes, el mantenimiento del nivel de oxígeno cerca de las raíces y la sanidad del cultivo para asegurar una calidad y una productividad óptimas (CORPOICA, 2007).

La agricultura protegida se proyecta como un sistema de producción en el cual se puede modificar a conveniencia el ambiente en el que se desarrollan los cultivos, dotar a la vez de una nutrición, manejo y cuidados idóneos, con el propósito de alcanzar un crecimiento óptimo y altos rendimientos en los cultivos (Castellanos, 2008).

La horticultura en México se ha dado de forma paulatina y bajo condiciones muy heterogéneas con un incremento sustancial en la última década. Siendo los estados del noreste del país en los cuales se ha denotado más dicho crecimiento (ibíd.).

Mas sin embargo, muy a la par de los jitomates con calidad de exportación, existe gran interés por los denominados tomates nativos, también llamados criollos, regularmente presentan formas variadas desde grandes tipo riñón a redondos muy pequeños de 1 cm de diámetro (Carrillo-Rodríguez *et. al.*, 2009), pero son muy demandados por los consumidores especializados, incluso se paga un sobreprecio, indicando que ese tomate tiene un sabor intenso, olor agradable y color rojo vivo (Ramos, 2005).

En México existen muchas variedades de jitomates criollos que están desapareciendo debido a que las comercializadoras inclinan por variedades que posean características más deseables como dureza, peso, etc. por su parte, los denominados criollos suele ser característico de lugares muy alejados, incluso a veces, lugares marginados, donde suelen crecer como cultivo de traspatio (Caro, 2011).

Las especies silvestres se caracterizan por presentar frutos de alta calidad nutritiva, con tamaño y peso menores que las variedades comerciales (Rick, 1976; Vásquez-Ortiz 2010). De igual forma presentan un mayor número de flores por racimo (Vallejo *et al.* 1994; Vásquez-Ortiz 2010); Miller y Tanksley (1990) estimaron que los genomas del jitomate cultivado con variedades modernas contienen menos del 5% de la variación genética de sus parientes silvestres.

Es por circunstancias como las antes mencionadas que nace el interés de parte de instituciones educativas y de investigación como el Banco de Germoplasma Natural para la obtención de bancos de germoplasma y conservación *in situ* de las variedades exóticas o de polinización abierta, dado el bagaje genético que poseen, así como las propiedades organolépticas de las mismas, razón por la cual, el uso de invernaderos para el control de las condiciones medioambientales es una herramienta de gran valía al momento de la producción de este tipo de variedades.

"Los jitomates modernos, debido a que no deben madurar rápido, tienen menores propiedades, a diferencia de los criollos que siguen su proceso natural, por lo que son más nutritivos y con mejor sabor" (Caro, 2011)

En México, la superficie dedicada a cultivos de invernadero se estima en más de 4 000 has, de las cuales el 75% se cultivan con jitomate, dado que este cultivo representa una fuente importante de ingresos (Jasso 2007). Cabe indicar que las hectáreas arriba mencionadas corresponden únicamente a invernaderos (vidrio y plástico) no tomando en cuenta ni los macro túneles, casas-sombra o demás estructuras implementadas para la producción agrícola, ya que siendo así la superficie dedicada a tales sistemas de producción ascendería a casi las 10 000 hectáreas, dato que corresponde a lo planteado por la AMCI (Asociación Mexicana de Constructores de Invernaderos) y citada por Castellanos y Borbón en el 2008.

Es importante en este punto hacer mención que las superficies así como el destino de los cultivos protegidos es muy oscilante, razón por la cual no existe a ciencia cierta un dato totalmente confiable en cuanto a las superficies destinadas a cada cultivo en particular, pero de acuerdo a lo mencionado por los investigadores, dichas superficies son un reflejo bastante fidedigno de lo que acontece en el agro mexicano.

De acuerdo a datos de la AMCI (2008) y en concordancia con CESVA 2009, en el estado de Aguascalientes se destina una superficie de 35 ha a la horticultura protegida, de las cuales poco más de 16 ha corresponden específicamente a invernaderos.

El jitomate es una de las hortalizas más cultivadas en invernadero, por lo que es de interés encontrar sistemas de producción que incrementen el rendimiento y calidad de los frutos, doten a la planta de mayor vigor y precocidad, sin mermar la sanidad y el desarrollo de la misma. (Sánchez del castillo *et. al.*, 2009).

En relación a lo anterior, se procederá a mencionar algunas de las variables más importantes a tomar en cuenta al momento de llevar a cabo una producción de jitomate bajo condiciones de invernadero.

5.4.2 Trasplante

De acuerdo a las recomendaciones técnicas, en la región del centro y norte de México, las siembras se hacen primordialmente en los meses de febrero, minimizando los efectos del frío y aprovechando una ventana de venta existente entre la salida del mercado de Sinaloa y entrada de Michoacán, principalmente entre los meses de mayo y junio (Castellanos y Borbón 2008).

A la par de lo anterior, es importante destacar que en gran medida la producción bajo invernadero se realiza en suelo. Una de las ventajas del cultivo en suelo es el que tiene una alta capacidad de amortiguamiento desde el punto de vista nutrimental y de manejo del agua (Espinosa 2004).

5.4.3 Condiciones climáticas

A la planta de tomate le favorece el clima caliente, baja luminosidad al igual que las temperaturas de la noche y el día. La temperatura de desarrollo oscila entre 20 a 30° C durante el día y entre 13 y 17° C durante la noche (León, 2001).

Por lo que respecta a la humedad; la humedad relativa óptima oscila entre 60 a 70%. Todas las anteriores son condiciones que son muy fáciles de controlar y conferir mediante el correcto empleo de un invernadero.

5.4.4 Condiciones edáficas

La planta de tomate no es muy exigente en cuanto a suelos, se desarrolla perfectamente a pH desde 6.5 a 7.5 (Espinosa, 2004).

La función del sustrato es la de proporcionar a la planta un medio de sostén, protegiendo a la raíz de la luz, además de contener la solución nutritiva de la planta. Entre los sustratos empleados más comúnmente en hidroponía se cuentan: Vermiculita (Silicato de Aluminio), Perlita, Peat Moss (turba vegetal), grava, tezontle, aserrín, resinas sintéticas, cascarilla de arroz, fibra de coco, etc. y de acuerdo a lo propuesto por Jasso en el 2007, no existe diferencia en cuanto al sustrato artificial empleado para el cultivo del mismo.

5.4.5 Nutrición mineral

De acuerdo con Navarro en el 2000, la fertilización vegetal es una de las prácticas agrícolas de mayor impacto en la producción de los cultivos. En el mundo, considerables cantidades de fertilizantes se aplican a los cultivos, con el objetivo de obtener mayores rendimientos y mayor calidad en los productos de cosecha. Esto implica que las aplicaciones de nutrimentos deben hacerse en función de la tasa de crecimiento del cultivo.

En relación a lo anterior Gomez y colaboradores en el 2003 mencionan que se han publicado muchas fórmulas para diferentes cultivos sin embargo, hay que considerar que la composición específica más adecuada depende de las condiciones climáticas, en particular de la temperatura y de la luz y sobre todo de la calidad del agua que se utilice, así mismo se deben también de tomar en cuenta las necesidades nutrimentales de la planta a la que se va a aplicar, así como la edad o etapa fenológica de la misma y el sistema con el cual se lleve a cabo el cultivo.

En el mismo orden de ideas, el principio básico de la nutrición vegetal balanceada es el monitoreo de los elementos minerales en agua, suelo y planta utilizando para esto una serie de análisis y técnicas de nutrición tales como: análisis de suelo, análisis de agua, análisis de solución del suelo, análisis foliar, análisis de extracto celular de pecíolo y análisis bromatológicos entre los más importantes (Navarro 2000).

Los procesos implicados en la nutrición son: La absorción de los nutrientes, el intercambio de gases (oxígeno y dióxido de carbono), el transporte de nutrientes por todo el organismo, el catabolismo (degradación de las moléculas en otras más sencillas con obtención de energía) y la excreción de sustancias tóxicas producidas durante el metabolismo celular (Enríquez-Reyes *et. al.*, 2003).

En cuanto a los nutrientes esenciales para la planta, y en particular para el jitomate, es importante recalcar, que dada la versatilidad de variedades, así como de climas, regiones y épocas en que este se produce, no existe una dosis que pueda ser considerada “ideal”, ya que los aspectos antes mencionados, así como algunos otros que se den a lo largo del cultivo, como las plagas y las enfermedades, sequias, manejo del cultivo etc. pueden afectar en mayor o menor medida a la necesidad de nutrientes en el cultivo.

5.4.6 Manejo cultural

Aunque las actividades a realizar en el invernadero serán muy particulares en cada uno de los centros de producción, así como dependientes de la variedad, la etapa fenológica del mismo, el fin último del producto así como condiciones particulares del invernadero mismo. No obstante a lo anterior existen algunas actividades que podrían considerarse como de uso general en las explotaciones de jitomate así como de otras hortalizas en invernadero.

a) Entutorado: Realizado para mantener la planta erguida y evitar que las hojas, y sobre todo los frutos toquen el suelo, mejorando así la aireación general de la planta y favoreciendo el aprovechamiento de la radiación solar y la realización de las labores culturales, realizada a partir del entrelazado del tallo de la planta con alguna cinta dispuesta en forma vertical desde el suelo hasta alguna estructura rígida en la o cerca la techumbre del invernadero.

b) Podas: La poda le permite a la planta equilibrar la producción vegetativa y la producción de frutos, consiste básicamente en la eliminación de los brotes axilares así como los racimos una vez que se ha concretado la cosecha.

c) Deshojado: En la poda de hojas, se van eliminando todas aquellas hojas inferiores senescentes por debajo del último racimo que se va cosechando o en los casos que así se requiera, las hojas enfermas o que se encuentren dañando la calidad del fruto.

d) Manejo sanitario de plagas y enfermedades: consiste en el control y monitoreo, así como erradicación en caso de presencia de algún patógeno mediante la implementación del monitoreo y en los casos que lo requiera aplicación de agroquímicos de forma preventiva y correctiva según sea la necesidad.

e) Variedades: de acuerdo al tipo de variedad será el manejo particular que se habrá de realizar pudiendo ser en la mayoría de los casos, variedades de crecimiento determinado o indeterminado.

5.4.7 Evaluación del rendimiento del cultivo en invernadero

En términos prácticos, para el caso del tomate, los componentes del rendimiento y a la vez parámetros para la evaluación del potencial del cultivar son, el número de frutos por planta y el peso de los mismos.

Para clasificar los frutos de acuerdo a su calidad, es necesario tomar en cuenta una serie de características:

- 1) Firmeza de los frutos, puede ser consistente, esponjosa y flácida,
- 2) Limpieza, los frutos deben estar libres de polvo y residuos de plaguicidas,
- 3) Uniformidad en madurez y tamaño, sólo se permite limitado por ciento de defectos,
- 4) Forma de los frutos, las hendiduras y deformaciones influyen en la calidad,
- 5) Sanidad.

De acuerdo a esta clasificación, el grado de madurez del fruto se va a determinar el grado y calidad a la que pertenezca (Van, 1982).

Por otro lado de acuerdo a las técnicas de Kvet y colaboradores (1971), recomendadas por Paes y colaboradores (2000), Los parámetros para evaluación de crecimiento son encausados a la medida de los pesos foliares, radicales, totales, sus distintas proporciones así como el cálculo de las velocidades de crecimiento y desarrollo que a partir de los datos antes adquiridos se pueden llegar a determinar. Aunque muchas de estas medidas son de carácter destructivo, los datos que arrojan justifican dicha práctica.

6. METODOLOGIA

6.1 CULTIVO *in vitro*: ESTABLECIMIENTO DE CULTIVO ASÉPTICO DE DIFERENTES VARIEDADES DE JITOMATE

6.1.1 Definición de un sistema de desinfección de semillas para su establecimiento en condiciones de asepsia

A partir de la selección de materiales vegetales, se llevó a cabo la desinfección de semillas de jitomate de distintas variedades que resultaron de interés para la presente investigación. Las características de las variedades seleccionadas para este trabajo se muestran en el Anexo A. Para la desinfección de estos materiales se realizó en condiciones de asepsia dentro de la campana de flujo laminar, para tales efectos de desinfección se probaron diferentes concentraciones y lapsos de duración de los principales compuestos empleados para la desinfección como lo son el etanol y el hipoclorito de sodio.

Se obtuvieron semillas de 7 distintas variedades de jitomate, tanto de polinización abierta como comerciales. Se desinfectaron sumergiéndolas durante 1 min en etanol (80% v/v), luego se agitaron durante 15 min en una solución al 20%, (v/v) de Clorálex® adicionado con 0.1% (v/v) de Tween® 80 (Polyoxietilen sorbitán; SIGMA^{MR}). Las semillas se sembraron sobre medio MS y se incubaron a 25 °C bajo condiciones de foto período (16/8) y $72 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ de intensidad lumínica.

6.1.2 Definición de un medio de cultivo apropiado para el establecimiento de las variedades a evaluar en particular

Para determinar el medio de cultivo más apropiado para el establecimiento *in vitro* de distintas variedades, se evaluaron tres formulaciones siendo seleccionados los que de acuerdo con la literatura son comunes para una importante cantidad de especies. Dichos medios fueron el MS (Murashige & Skoog) N&N (Nitch & Nitch) y Reeves (George *et. al.*, 2008) modificado por Vázquez, *et. al.*, (datos no publicados).

Con el afán de elegir un medio a partir del cual se desarrollaran de una manera ideal las semillas germinadas y que a partir de este mismo se pudieran obtener cultivos asépticos, se llevó a cabo la propagación de los brotes obtenidos a partir de la siembra de las semillas, dichos explantes se propagaron en diferentes medios nutritivos recomendables para tales efectos.

Los explantes obtenidos se colocaron sobre los medios: MS, Nitsch & Nitsch y medio Reeves adicionados con sacarosa al 3.0, 2.0 y 5.0 % respectivamente así como $2.0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de gelrite®.

Los cultivos se incubaron a 25 °C bajo condiciones de fotoperíodo (16/8) y 72 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ de intensidad lumínica. Las observaciones se realizaron después de 4 semanas de cultivo.

Para determinar la viabilidad de empleo de uno u otro medio se realizó una prueba ANOVA unidireccional, tomando como variable la altura alcanzada por los explantes, que de acuerdo al gráfico arrojado por el programa estadístico MINITAB 16®, la opción más viable en cuanto a medio se refiere es el MS dada la diferencia entre los tratamientos.

6.1.3 Establecimiento de cultivos asépticos a partir el sub-cultivo de segmentos nodales

Una vez probados los diferentes medios con el afán de obtener la mayor y mejor calidad de brotes, se realizó la propagación masiva de las variedades vegetales hasta obtener un número considerable de explantes para la generación y puesta en marcha de posteriores experimentos.

Para la obtención de tal acervo de germoplasma se utilizaron los meristemos laterales teniendo cuidado de que los explantes empleados fueran lo más homogéneos posibles con el fin de que el cultivo vegetal se desarrollara de una manera uniforme.

A partir de los cultivos asépticos se obtuvieron segmentos nodales con una longitud promedio de 0.7 cm, conteniendo una yema lateral, (0.5) cm del entrenudo basal y 0.2 cm del entrenudo superior a la yema y se colocaron en forma vertical en relación al medio a una profundidad de aproximadamente 0.4 cm (sin exponer la yema al contacto directo con el medio).

6.2 DESARROLLO DE SISTEMA PARA LA PROPAGACIÓN *in vitro* DE LAS VARIEDADES SELECCIONADAS.

6.2.1 Prueba de distintas citocininas y sus concentraciones a fin de inducir brotación lateral en los cultivos establecidos

Uno de los objetivos primordiales de la presente investigación fue la de inducir la generación de mayor número de meristemas por planta, esto a partir de fomento a la brotación lateral de las mismas, esta finalidad busco el obtener explantes que se tradujeran a su vez en plantas libres de patógenos, mismas que dada su potenciales son ideales para desarrollarse en ambientes externos.

Fue por todo lo anterior que para el desarrollo de este objetivo se probaron distintas concentraciones, formulaciones y presentaciones de fitoreguladores, para lo anterior se llevaron a cabo diferentes tratamientos con el interés de elegir aquella o aquellas que generaran una mayor cantidad de brotes.

La manera de evaluar tales experimentos fue analizando todos los tratamientos y determinando cual fue aquel en el que se generó la respuesta buscada de una manera adecuada a las necesidades y tiempos de la presente investigación.

A partir de los cultivos asépticos se obtuvieron segmentos nodales (descritos anteriormente) y se colocaron, sobre los medio MS adicionado con 3.0 % de sacarosa y $7 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de Agar y distintas concentraciones de citocininas : Cinetina (Cin) 0.0, 0.01, 0.1 y $1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$; Thidiazuron (TDZ) 0.0, 0.01, 0.1 y $1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$; Meta-Topolina (MT) 0.0, 0.1, 1.0 y $10.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$; Benciladenina (BA) 0.0, 0.1, 1.0 y $10.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$; y Isopenteniladenina (2Ip) 0.0, 0.1, 1.0 y $10.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

Los cultivos se incubaron a 25°C bajo condiciones de foto período (16/8) y $72 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ de intensidad lumínica. Las observaciones se realizaron después de 4 semanas de cultivo.

6.2.2 Inducción de brotación y enraizado previo a su aclimatación *ex vitro*

Una vez concluido el objetivo anterior, se procedió a favorecer mediante el empleo de diferentes concentraciones del medio el enraizado y brotación de los explantes que se emplearon *ex vitro*.

Se tomaron ápices individuales de aproximadamente 30 mm y se colocarán sobre medio MS con 100, 50 y 25 por ciento de sales macronutrientes, respectivamente, adicionado con $20 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de sacarosa $7.0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de agar, pH 5.8; 25°C , un fotoperiodo de 16/8 y $72 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ de intensidad lumínica. Las observaciones se realizaron cada semana durante un lapso de 4 en etapa de incubación.

6.2.3 Aclimatación *ex vitro* de ejemplares a establecer en invernadero.

Obtenidos todos los brotes necesarios, con el tamaño de raíz y folíolos adecuados para su trasplante en invernadero, se procedió a la aclimatación de los mismos, para tales efectos se probaron diferentes métodos reportados por la literatura a fin de determinar el adecuado para estas variedades e investigación en particular, así como analizar el potencial del mismo.

A partir de plántulas crecidas durante tres semanas se seleccionaron ápices (3.0 ± 0.5 cm) y se probaron dos métodos de enraizamiento-aclimatación y establecimiento en sustrato.

Un número de ápices se sub-cultivó sobre MS con la mitad de los macronutrientes adicionado con $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ de sacarosa $7.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ de agar, pH 5.8, cultivados en un cuarto a 25°C , fotoperiodo (16/8) y $72 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ de intensidad lumínica; después de 8 días los ápices enraizados se trasplantaron a macetas individuales conteniendo una mezcla de sustrato (*peat-moss* Lambert®) y se mantuvieron en condiciones de alta humedad relativa durante tres días bajo las mismas condiciones medioambientales. Después se disminuyó la humedad relativa destapando paulatinamente las macetas hasta descubrir completamente las plántulas, cumplidos los 22 días desde el subcultivo.

Otro grupo de ápices se subcultivo directamente sobre el sustrato en macetas individuales conteniendo una mezcla de sustrato (*peat-moss* Lambert®) y se mantuvieron en condiciones de alta humedad relativa, 25°C , fotoperiodo (16/8) y $72 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ de intensidad lumínica durante diez días.

Después se disminuyó la humedad relativa destapando paulatinamente las macetas hasta descubrir completamente las plántulas, cumplidos los 22 días desde el subcultivo.

Las variedades que se pusieron tanto a aclimatar *ex vitro* como a germinar a partir de semilla y que son las mismas evaluadas a lo largo de la investigación son: *Purple Calabash*, *Rief Red Heart*, *Black Prince*, *Amish Salad*, *Japanese*, *Green Grape*.

La aclimatación se realizó en vasos de 210 ml y charolas de 60 cavidades según cada caso en particular, vasos para las provenientes del CTV y charolas para las semillas, procurando con esto, que tanto vasos como charolas tuvieran el mismo volumen y no fuera esta una condición que desde un inicio pudiera alterar los resultados.

Se establecieron a partir del día 14 de febrero del 2012 bajo las condiciones antes mencionadas. Una vez que desarrollaron un sistema radicular que pudiera ser visible a partir de la pared de los vasos (en el caso del CTV) y que las plantas mismas hayan generado nuevas hojas, todas las plántulas se trasladaron al invernadero para continuar con el crecimiento, siendo esto a las 5 semanas del establecimiento.

Se llevó a cabo de forma manual el trasplante en su sitio definitivo 2 semanas después de su traslado al invernadero, una vez que las plantas se hubieron aclimatado a las condiciones ambientales del invernadero.

Desde la germinación hasta el día de trasplante se regó con *Hakaphost violeta*® a una relación de 1g/L agua, según necesidades hídricas de cada planta en particular, esto con la finalidad de que las raíces formadas fueran adaptándose para la asimilación de los nutrientes.

6.3 EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO EN INVERNADERO BAJO CULTIVO HIDROPÓNICO DE AL MENOS 5 DE LAS VARIEDADES PROPAGADAS *in vitro*

6.3.1 Establecimiento del cultivo en invernadero de plántulas propagadas *in vitro* y propagadas a partir de semillas, fertirrigadas mediante un sistema semi hidropónico

Con la finalidad de llevar a cabo un cultivo en invernadero con las condiciones de sustrato y nutrición apropiados para su desarrollo, se realizó una revisión literaria así como la consulta con especialistas en el rubro a fin de poder determinar los valores y materiales apropiados para su empleo en la presente investigación.

Dada la versatilidad del cultivo, así como las condiciones medioambientales a las que fue sometido, las variables iniciales llegaron a ser cambiadas o adecuadas a lo largo del cultivo con el único objetivo de llevar a exitoso fin el mismo, procurando siempre conservar la esencia medular del mismo.

Para el sustrato se empleó fibra de coco en bolsas de 1 x 0.15 m de largo y ancho respectivamente con orificios cada 33 cm a fin de poder dar un acomodo a tresbolillo en el invernadero. Dichas bolsas recibieron tratamiento fitosanitario (Ver anexo D)

El riego se realizó mediante el uso de cintilla de goteo con distancia entre goteros de 10 cm y un flujo de 1L/hr/m. La frecuencia de riego se determinó de acuerdo a las necesidades diarias del cultivo basándose en las condiciones ambientales, la etapa fenológica del cultivo y el porcentaje de drenaje en el invernadero.

Para la solución nutritiva se empleó la recomendada por Castellanos en el 2009, la cual es una solución basada en el contenido nutricional del sustrato, del agua así como la etapa fenológica del cultivo, dicha solución es calculada en micro equivalentes de cada uno de los denominados elementos esenciales para el cultivo de jitomate.

6.3.2 Evaluación del crecimiento de las plantas cultivadas y de sus frutos, dada la técnica de multiplicación (*in vitro*/semilla) bajo condiciones de invernadero, en un sistema semi-hidroponico.

Para poder evaluar el potencial de cada una de las variedades a evaluar, así como poder determinar si el empleo del CTV era una técnica que aportara ciertas ventajas en comparación del cultivo tradicional, se compararon tanto plantas obtenidas por método tradicional de siembra directa en almacigo, como plántulas obtenidas a partir de la aclimatación de plantas *in vitro*.

Para tales efectos se dispusieron igual número de plantas entre las diferentes variedades a evaluar totalmente al azar.

A partir del trasplante de las mismas, se dio el mismo tratamiento cultural, sanitario y agronómico para todas las plantas en general a lo largo de 16 semanas en las cuales se llevaron a cabo diferentes mediciones.

A lo largo del desarrollo del cultivo de jitomate en invernadero, se buscó el analizar diferentes variables de interés agronómico, dichas variables se midieron periódicamente según el tiempo y el cultivo mismo lo permitieron, siendo medidas los 2 tipos de plantas por igual.

Para la evaluación de la calidad del fruto que fue así mismo el parámetro para comparar los frutos obtenidos se realizó la medición de la altura, largo, ancho en centímetros, así como el peso en gramos de los mismos.

6.3.3 Fertirriego

Se comenzó desde la germinación hasta el trasplante con una solución de *hakaphost violeta* como se menciona en el apartado anterior, aplicándose según las necesidades hídricas de cada planta, siendo aproximadamente de 50 ml de solución cada 3er día hasta el momento del trasplante.

A partir de la semana 7 y hasta la 14 se aplicó la dosis de fertilización denominada “etapa 1” correspondiente a la etapa de formación de follaje y amarre del sistema radicular, con una preparación correspondiente a la mitad de la misma a fin de que la conductividad y pH de la misma no estresara en demasía el cultivo si no que por el contrario fuera paulatino dicho efecto.

A partir de la semana 14 se aplicó la solución correspondiente a la “etapa 1”, con la totalidad de sus elementos, a fin de que la planta continuara con la formación del follaje y en esta etapa en particular fuese auxiliar en la floración de la misma.

La dosis antes mencionada se mantuvo hasta la semana 17, que fue cuando se cambio por la solución correspondiente a la “etapa 2” enfocada al auxilio en la formación y engorde de los 2 a 4 primeros racimos frutales, así como en la floración del resto de la planta.

En la semana 20 se cambió por la solución correspondiente a la “etapa 3” que es auxiliar en el engorde de los primeros 5 racimos frutales, sobretodo en esta etapa en que se comienzan las cosechas y los deshojes en mayor medida, a fin de evitar desbalances nutricionales en la planta.

De la semana 23 en adelante y hasta el fin del cultivo se comenzó a aplicar la solución concerniente a la “etapa 4” dosis nutricional indicada para plantas que se encuentran en etapa productiva, con más o promedio de 5 racimos en etapa de engorde, más los que se encuentran en estado floral aun.

La cantidad y frecuencia de riego dependió de la etapa y el clima en particular, pero se tuvo un gasto promedio de 300L /día, lo que nos da un promedio de 1.5L /planta.

6.3.4 Tratamiento fitosanitario

De la semana 1 a la 6 se dieron tratamientos sanitarios para la desinfección del modulo, paredes, techo, el sustrato, sistema de riego etc. dentro del invernadero, esto mediante el empleo de diversos productos como cloralex® (hipoclorito de sodio), Vircon® (triple sal de potasio, cloruro de sodio), Busan30® (2-(tiocianometiltio) benzotiazol) y Fractal® (extracto semillas limón), a las dosis recomendadas.

La desinfección de la plántula y su tratamiento preventivo después del trasplante se dio con confidor® (imidacloprid), alleato® (fosetil-al) y previcur® (Propamocarb) al inicio de las semanas 7, 8 y 11, de acuerdo a las dosis recomendadas para cada producto en específico.

En la semana 11, 15 y 18 se aplicó derosal® (Carbendazim) fungicida al suelo de manera preventiva.

En las semanas 10 y 14 se aplicaron micorrizas (bactiva®) cada 30 días intercalado entre las desinfecciones del suelo.

Para las semanas 18 y 20 se aplicó insecticida en presentación de confidor® (imidacloprid) y lannate® (metomilo) respectivamente.

Se aplicó fungicida de contacto correctivo en las semanas, 14, 18 y 20, siendo cupravit® (oxicloruro de cobre) y kumulus® (azufre) respectivamente, según necesidades del cultivo.

Todas las aplicaciones se hicieron de acuerdo a la dosis recomendada para el cultivo de jitomate, tomando en cuenta las fechas de rentrée al cultivo así como los días a cosecha del mismo. Empleando para tales efectos todo el equipo de protección necesario.

6.3.5 Manejo cultural (podas y deshojes)

El comienzo del tutorado, se dio a partir de la semana 10 empleado para tales fines, hilo de rafia que previamente había sido anudado a un entramado de alambres en la parte superior del invernadero, así como al cuello de las plantas a fin de que se formaran hiladas verticales con las cuales poder sostener las plantas.

Sistemáticamente se realizó cada semana, siendo los días lunes los indicados para tales efectos a fin de que se volviera rutinario, así mismo, porque ese día se realizaban las mediciones en las plantas.

Se concluyó definitivamente el 11 de junio (semana 15) aunque algunas variedades se terminaron de tutorar semanas antes de acuerdo al crecimiento de las mismas.

Los desbrotes se realizaron los mismos días que se realizaron los tutorados, concluyéndose pues en la misma fecha.

Los deshojes comenzaron a la semana 12 y se realizaron cada 2 semanas, eliminándose la cantidad de hojas que cada planta en particular requería, procurando que las hojas eliminadas en cada planta fuera similar al resto de las plantas, tanto en número como altura de dosel descubierto.

El inicio de la toma de datos fue en la semana 10 y se realizó durante 5 semanas todos los lunes, justo cuando las plantas alcanzaron su altura máxima y fueron decapitadas.

1.5.5 Polinización

La polinización se comenzó a partir de la semana 12, procurando que fuese todos los días entre 10 y 11 de la mañana cuando la temperatura se aproximaba a los 20°C y la humedad relativa menor al 60% y mayor del 40%.

7. RESULTADOS

7.1 ANÁLISIS DE LOS DATOS

En la etapa I, se registró el porcentaje de germinación de semillas para cada variedad. No se realizaron pruebas comparativas entre proporciones debido que solo se implementó un método general de desinfección ya que el interés era de establecer cultivos asépticos que luego se incrementaran mediante el subcultivo vegetativo *in vitro*.

En la etapa II, para evaluar el efecto de las citocininas sobre la brotación lateral durante el establecimiento y multiplicación de las distintas variedades, las principales variables evaluadas fueron el porcentaje de segmentos nodales brotados, el número de segmentos nodales generados en cada brote y la longitud de los brotes. Todos los experimentos se diseñaron según arreglo completamente al azar con igual número de repeticiones (segmentos nodales) por tratamiento; algunos experimentos variaron en el número total de explantes (16-60 segmentos nodales/tratamiento).

Para evaluar las respuestas de los segmentos nodales (longitud de brotes, número de segmentos nodales) en las distintas citocininas y sus concentraciones, los datos se sometieron a un ANOVA de un factor con la prueba de homogeneidad de varianzas. En los casos en que se observaron diferencias entre tratamiento se realizó la prueba de comparación de medias (Tukey; $\alpha = 0.05$).

Para la etapa III se evaluó el porcentaje de plántulas que se aclimataron después de haber sido enraizadas *in vitro* y *ex vitro* en sustrato, los datos se analizaron mediante una prueba *t* modificada (no paramétrica) para dos proporciones.

Por último para la etapa IV se evaluó el desarrollo de las plantas en invernadero, comparando así 192 plantas que fueron obtenidas tanto de semilla como de cultivo *in vitro*, acomodadas totalmente al azar. Con diferentes variedades con igual número de plantas por método de obtención.

Tabla 1. Abreviaturas de las diferentes variedades de jitomate evaluadas en la investigación.

Colección / Utilidad	Variedad	Abreviaturas
Rainbow	Black Prince	BP
	Reif Red Heart	RRH
Novelty	Elfin	Elfin
	Green Grape	GG
	Japanese Black Trifele	JBT
	Purple Calabash	PC
Otros	Amish Salad	AmS

Tabla 1. La colección/utilidad se refiere a la agrupación cualitativa que se hace para una oferta comercial, por parte del proveedor (Tomato Fest®)

7.2 DESINFECCIÓN Y ESTABLECIMIENTO DE CULTIVOS *in vitro*

De acuerdo a lo observado en la tabla 3, se puede observar que en términos generales, sin importar la variedad o la procedencia de la misma, los índices de germinación son aceptables para casi todas, dado que salvo unas cuantas variedades, la mayoría rindieron porcentajes de germinación superiores al 80%. Si se tiene en cuenta que para explotaciones agrícolas las semillas consideradas como no comerciales, raras veces logran germinaciones del 50 por ciento; a razón de lo anterior, en la mayoría de los casos se lograron porcentajes de germinación superiores.

Para la determinación de los porcentajes de desinfección y germinación, tras ser desinfectadas se establecieron en medio MS, 7 semillas de cada variedad distribuidas equitativamente por recipiente de cultivo, con un total de 3 botes por variedad; dando como resultado 21 semillas a analizar, mismas a partir de las cuales se cuantifico una vez transcurridas 4 semanas el porcentaje de germinación. Lo anterior importar el tamaño del brote, solo así la presencia o ausencia de indicativos de germinación (radícula, hipocotilo, etc.).

Tras ser desinfectadas y establecidas en medio MS, una vez transcurridas 4 semanas se cuantifico el porcentaje de contaminación, sin importar el tipo de la misma ya sea endógena o propia de la manipulación, solo así la presencia o ausencia de indicativos de contaminación (hongos, levaduras, bacterias).

Tabla 2. Efecto de la técnica de desinfección y, la germinación en semillas de diferentes variedades de jitomate, después de 4 semanas de incubación *in vitro*.

VARIEDAD	GERMINACION (%)	CONTAMINACION
Amish Salad	100	0
Black Prince	44	0
Elfin	100	0
Green Grape	100	0
Japanese Black Trifele	93	0
Purple Calabash	100	0
Reif Red Heart	89	0

Tabla 2. Los porcentajes de germinación en la mayoría de los casos fueron superiores al 80%, más allá del porcentaje de germinación considerado como óptimo para las semillas no comerciales que es cerca del 50%.

7.3 EFECTO DE DISTINTAS FORMULACIONES DE MEDIO NUTRITIVO PARA EL ESTABLECIMIENTO *IN VITRO* DE CULTIVOS, A PARTIR DE SEGMENTOS NODALES.

La mayoría de las variedades no mostraron diferencias significativas cuando se compararon los números de segmentos nodales brotados excepto en la variedad Green Grape (P= 0.0306) donde se observó una disminución de la respuesta en el medio MS en comparación con medio Reeves y N&N. En ninguna de las variedades se observaron diferencias en el número de segmentos nodales y la longitud de los brotes (tabla 3).

Se determinó la aceptación de la formulación de Murashige y Skoog como el medio básico de mantenimiento para los cultivos y experimentos subsecuentes debido a que en general, los brotes *in vitro* mostraron como efectos cualitativos sobresalientes: la presencia de tricomas un aspecto vigoroso, y una coloración verde brillante (figura 1).

Tabla 3. Efecto de las formulaciones del medio nutritivo sobre la brotación de segmentos nodales de distintas variedades de tomates.

VARIEDAD	MEDIO DE CULTIVO	% BROTACION	SIGNIFICANCIA
AmS	MS	89	0.3541
	REEVES	89	
	N y N	78	
BP	MS	78	0.5
	REEVES	78	
	N y N	78	
Elfin	MS	89	0.3032
	REEVES	89	
	N y N	100	
GG	MS	56	0.0306
	REEVES	89	
	N y N	89	
JBT	MS	78	0.1029
	REEVES	89	
	N y N	100	
PP	MS	100	0.1533
	REEVES	100	
	N y N	78	
RRH	MS	100	0.1533
	REEVES	89	
	N y N	89	

Tabla 3. Las columnas muestran el porcentaje de brotación en diferentes variedades de jitomate.

Figura 1. Brotes laterales de tomate a partir de segmentos nodales crecidos sobre medio MS, después de 4 semanas de cultivo *in vitro*.



Fig. 1. Brotes laterales de tomate (var. Black Prince) a partir de segmentos nodales crecidos sobre medio MS, después de 4 semanas de cultivo *in vitro*.

7.4 MULTIPLICACIÓN

7.4.1 Cinetina

La mayoría de las variedades no mostraron un incremento en la proporción de segmentos brotados. En cambio Japanese Black. ($P= 0.0007$) mostro una disminución de en el porcentaje de brotación con la adición de la cinetina.

La mayoría de las variedades no mostraron un incremento en el número de segmentos nodales por brote. Se observó que la adición de Cinetina en el rango de concentraciones utilizadas redujo el número de segmentos nodales para Black Prince ($P<0.05$).

La mayoría de las variedades no mostraron diferencias en la longitud de los brotes excepto en Green grape y Reif Red Heart ($P<0.05$) cuya longitud mayor se observó con la adición de 0.1 mg L^{-1} proporción de segmentos brotados. En Elfin la adición de Cinetina disminuyó el tamaño de los brotes. (Tabla 4)

Figura 2. Efecto de la cinetina sobre la elongación de brotes laterales a partir de segmentos nodales de jitomate.



Fig. 2. Efecto de la cinetina sobre la elongación de brotes laterales a partir de segmentos nodales de jitomate, después de 3 semanas de cultivo *in vitro* sobre medio MS. De izquierda a derecha 0.0, 0.01, 0.1 y $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$.

Tabla 4- Efecto de la concentración de Cinetina sobre la brotación y el crecimiento de los brotes laterales generados in vitro sobre segmentos nodales de distintas variedades jitomate

Variedad	Tratamiento	brotación	Valor P	Numero de segmentos nodales	Valor P	Longitud de segmentos nodales	Valor P
AMS	A	83.3%	0.4575	1.9 ± 0.21 a	0.489	5.02 ± 0.62 b	0.002
	B	90.0%		1.76 ± 0.182 a		5.61 ± 0.63 b	
	C	80.0%		1.63 ± 0.19 a		4.52 ± 0.62 ab	
	D	78.3%		1.41 ± 0.20 a		2.85 ± 0.45 a	
BP	A	81.7%	0.189	1.56 ± 0.19 b	P<0.05	3.87 ± 0.52 b	P<0.05
	B	86.7%		1.63 ± 0.18 b		3.95 ± 0.50 b	
	C	80.0%		1.2 ± 0.15 ab		3.09 ± 0.49 a	
	D	61.7%		0.68 ± 0.12 a		1.45 ± 0.26 a	
ELFIN	A	97.2%	0.53	1.47 ± 0.21 a	0.150	4.91 ± 0.72 b	0.006
	B	86.1%		1.33 ± 0.21 a		3.73 ± 0.68 ab	
	C	100.0%		1.36 ± 0.24 a		2.96 ± 0.60 ab	
	D	77.8%		1.02 ± 0.18 a		2.18 ± 0.46 a	
GG	A	71.7%	0.259	1.40 ± 0.17 a	0.545	4.30 ± 0.60 ab	P<0.05
	B	80.0%		1.50 ± 0.15 a		4.06 ± 0.55 ab	
	C	85.0%		1.61 ± 0.17 a		4.75 ± 0.57 b	
	D	83.3%		1.38 ± 0.16 a		2.52 ± 0.36 a	
PC	A	68.3%	0.4712	1.25 ± 0.18 a	0.165	3.69 ± 0.56 a	0.322
	B	75.0%		1.30 ± 0.16 a		3.41 ± 0.48 a	
	C	58.3%		0.91 ± 0.15 a		2.80 ± 0.52 a	
	D	73.3%		1.40 ± 0.17 a		3.19 ± 0.48 a	
RRH	A	60.0%	0.264	2.15 ± 0.52 a	0.996	2.00 ± 0.36 a	0.001
	B	71.7%		2.26 ± 0.52 a		2.95 ± 0.47 ab	
	C	71.7%		2.41 ± 0.51 a		3.65 ± 0.51 b	
	D	76.7%		2.35 ± 0.51 a		2.54 ± 0.34 ab	

tabla 4. Las columnas muestran el porcentaje y los valores promedio ± error estándar. Las letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas (P < 0.05). Tratamientos (mg L⁻¹ de cinetina): A= 0.0, B= 0.01, C= 0.1 y D = 1.0

7.4.2 Meta-Topolina

La mayoría de las variedades no mostraron un incremento en la proporción de segmentos brotados con la adición de Topolina, inclusive Black Prince ($P = 0.0427$), mostro una disminución en el porcentaje de brotación por la adición de la misma.

La mayoría de las variedades no mostraron un incremento en el número de segmentos nodales por brote mediante la adición de Topolina. En ellos se notó que la concentración relativamente más baja ($0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) indujo un mayor número de segmentos nodales. En las variedades Elfin, Reif Red Heart y Purple Calabash se observó una similitud de las respuestas entre la concentración más baja y el control.

La adición de 0.1 mg L^{-1} de Topolina indujo la elongación de los brotes en mayor o igual medida que el testigo para las variedades: Black Prince, Green Grape y Reif Red Heart ($P < 0.05$). La adición de Topolina indujo un efecto negativo en la elongación de brotes para las variedades: Amish Salad, Elfin; para ellos, el testigo mostró la mayor altura ($P < 0.05$).

En términos generales, el resultado observado fue que la adición de MetaTopolina, en cualquiera de sus concentraciones en la mayoría de los tratamientos no dio un resultado significativo sin embargo, el empleo de estas favoreció la uniformidad en la brotación, entre las variedades. (tabla 5)

Figura 3. Efecto de la Meta-topolina sobre la elongación de los brotes laterales desarrollados en segmentos nodales cultivados sobre medio MS.



Fig. 3. Efecto de la Meta-topolina sobre la elongación de los brotes laterales desarrollados en segmentos nodales cultivados sobre medio MS, durante 4 semanas (de izquierda a derecha 0.0 , 0.1 , 1.0 y $10.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$). La presencia de Meta-topolina en el medio indujo efectos cualitativos distintos (ej. amarilleamiento) comparados con el desarrollo normal, observado *in vitro* en el control (tratamiento A).

Tabla 5- Efecto de la concentración de Meta-topolina sobre la brotación y el crecimiento de los brotes laterales generados *in vitro* sobre segmentos nodales de distintas variedades jitomate

Variedad	Tratamiento	YOP % brotación	Valor P	Numero de segmentos nodales	Valor P	Longitud de segmentos nodales	Valor P
AmS	A	95.0%	0.0975	3.03 ± 0.28 a	0.349	6.84 ± 0.70 c	P<0.05
	B	91.7%		2.5 ± 0.26 a		3.38 ± 0.38 b	
	C	91.7%		2.33 ± 0.30 a		2.14 ± 0.20 ab	
	D	85.0%		2.46 ± 0.34 a		1.16 ± 0.13 a	
BP	A	81.7%	0.0427	1.23 ± 0.23 a	0.026	2.00 ± 0.34 ab	P<0.05
	B	98.3%		2.05 ± 0.27 a		3.61 ± 0.42 c	
	C	90.0%		1.93 ± 0.28 a		2.31 ± 0.29 b	
	D	81.7%		1.18 ± 0.24 a		0.94 ± 0.13 a	
ELFIN	A	85.0%	0.0512	4.02 ± 0.23 b	0.031	8.46 ± 0.66 d	P<0.05
	B	98.3%		3.95 ± 0.27 b		5.96 ± 0.63 c	
	C	90.0%		2.80 ± 0.23 a		3.6 ± 0.23 b	
	D	88.3%		2.06 ± 0.26 a		1.43 ± 0.18 a	
GG	A	60.0%	0.5	1.81 ± 0.20 a	0.033	2.28 ± 0.46 b	P<0.05
	B	56.7%		2.45 ± 0.23 a		3.16 ± 0.43 b	
	C	60.0%		2.56 ± 0.25 a		1.89 ± 0.26 ab	
	D	63.3%		2.68 ± 0.26 a		0.81 ± 0.11 a	
PC	A	80.0%	0.2929	2.50 ± 0.29 b	P<0.05	4.26 ± 0.69 c	P<0.05
	B	78.3%		3.25 ± 0.39 b		3.90 ± 0.49 c	
	C	81.7%		3.08 ± 0.33 b		2.11 ± 0.24 b	
	D	70.0%		1.20 ± 0.19 a		0.47 ± 0.06 a	
RRH	A	81.7%	0.2373	1.43 ± 0.23 b	P<0.05	3.33 ± 0.53 b	P<0.05
	B	83.3%		1.3 ± 0.20 b		3.50 ± 0.40 b	
	C	76.7%		0.51 ± 0.14 a		2.24 ± 0.28 b	
	D	71.7%		0.55 ± 0.13 a		0.65 ± 0.08 a	

Tabla 5. Las columnas muestran el porcentaje y los valores promedio ± error estándar. Las letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$). Tratamientos ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de Meta-topolina): A = 0.0, B = 0.1, C = 1.0 y D = 10.0

7.4.3 Tidiázurón

La mayoría de las variedades no mostraron un incremento en la proporción de segmentos brotados con la adición de TDZ excepto Black Prince ($P = 0.0442$). En cambio Reif Red Heart ($P = 0.0001$) mostró disminución en el porcentaje de brotación con la adición de la TDZ.

La mayoría de las variedades no mostraron un incremento en el número de segmentos nodales por brote con la adición de TDZ. En Amish salad y en Reif Red Heart se observó un efecto negativo con la adición de TDZ en todas las concentraciones.

La adición de TDZ indujo un efecto negativo en la elongación de brotes para todas las variedades, así mismo en muchos de los casos pasadas las 4 semanas producía vitrificación en los explantes.

Tabla 6- Efecto de la concentración del Tidiázurón sobre la brotación y el crecimiento de los brotes laterales generados in vitro sobre segmentos nodales de distintas variedades jitomate

Variedad	Tratamiento	TDZ % brotación	Valor P	Número de segmentos nodales	Valor P	Longitud de segmentos nodales	Valor P
AmS	A	88.5%	0.3564	3.83 ± 0.35 c	0.042	5.51 ± 0.96 b	$P < 0.05$
	B	53.1%		1.36 ± 0.41 a		1.19 ± 0.44 a	
	C	76.0%		1.95 ± 0.21 ab		1.17 ± 0.16 a	
	D	75.0%		2.58 ± 0.24 b		0.83 ± 0.12 a	
BP	A	81.7%	0.0442	1.38 ± 0.28 a	0.023	1.34 ± 0.28 b	0.001
	B	78.3%		0.67 ± 0.15 a		0.34 ± 0.05 a	
	C	75.0%		1.03 ± 0.20 a		0.64 ± 0.10 a	
	D	85.0%		1.41 ± 0.22 a		0.48 ± 0.05 a	
ELFIN	A	84.4%	0.0652	1.83 ± 0.18 a	0.696	2.45 ± 0.37 b	$P < 0.05$
	B	79.2%		1.76 ± 0.18 a		2.23 ± 0.29 ab	
	C	77.1%		1.66 ± 0.17 a		1.70 ± 0.22 ab	
	D	75.0%		2.00 ± 0.17 a		1.31 ± 0.15 a	
PC	A	84.4%	0.0652	1.83 ± 0.18 a	0.696	2.45 ± 0.37 b	0.006
	B	79.2%		1.76 ± 0.18 a		2.23 ± 0.29 ab	
	C	77.1%		1.66 ± 0.17 a		1.70 ± 0.22 ab	
	D	75.0%		2.00 ± 0.17 a		1.31 ± 0.15 a	
RRH	A	85.0%	0.0001	0.83 ± 0.16 b	$P < 0.05$	1.96 ± 0.24 c	$P < 0.05$
	B	70.0%		0.61 ± 0.13 ab		1.34 ± 0.23 bc	
	C	46.7%		0.31 ± 0.09 a		0.89 ± 0.18 ab	
	D	58.3%		0.18 ± 0.06 a		0.58 ± 0.11 a	

tabla 6. Las columnas muestran el porcentaje y los valores promedio $\pm$ error estándar. Las letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$). Tratamientos ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de TDZ): A= 0.0, B= 0.01, C= 0.1 y D = 1.0

7.4.4 Benciladenina

Tras la adición de las variedades no mostraron un incremento en la proporción de segmentos brotados con la adición de BA. En cambio Black Prince ($P = 0.0004$) y Reif Red Heart ($P = 0.0404$) mostraron una disminución en el porcentaje de brotación con la adición de BA.

Tabla 7. Efecto de la bencil adenina en la brotación de segmentos nodales de distintas variedades de jitomate.

Variedad	Tratamiento	Brotación %	Valor P
BP	A	100	0.0004
	B	22	
	C	55	
	D	11	
GG	A	100	0.2018
	B	100	
	C	77	
	D	100	
PC	A	88	0.305
	B	77	
	C	77	
	D	88	
AmS	A	100	0.5
	B	100	
	C	100	
	D	100	
RRH	A	88	0.0403
	B	66	
	C	55	
	D	44	
ELFIN	A	100	0.2784
	B	88	
	C	100	
	D	100	

Tabla 7. El valor $P < 0.5$ indica diferencias significativas entre las proporciones relativas de los tratamientos con respecto al testigo (0.0 mg L^{-1}). Tratamientos (mg L^{-1} de BA): A = 0.0, B = 0.1, C = 1.0 y D = 10.0

Figura 4. Efecto la concentración de benciladenina en la elongación de brotes a partir de segmentos nodales de jitomate.



Fig. 4. Efecto la concentración de benciladenina en la elongación de brotes a partir de segmentos nodales de jitomate, después de 3 semanas de cultivo *in vitro*. El incremento de la concentración de BA disminuyó la longitud de los brotes e indujo defectos cualitativos en hojas y tallos.

Figura 5. Efecto de diferentes concentraciones de 2iP en la formación de de brotes a partir de segmentos nodales de jitomate.



Fig. 5. Efecto de diferentes concentraciones de 2iP en la formación de de brotes a partir de segmentos nodales de jitomate después de 3 semanas de cultivo *in vitro*.

7.4.5 2iP

La mayoría de las variedades no mostraron un incremento en la proporción de segmentos brotados con la adición de 2iP, excepto Purple Calabash (P = 0.0022) y Amish Salad (P = 0.0073).

Tabla 8. Efecto del 2iP en la brotación de segmentos nodales.

Variedad	Tratamiento	% brotación	Valor P
BP	A	100	0.2019
	B	87	
	C	100	
	D	87	
GG	A	100	0.5
	B	100	
	C	100	
	D	100	
PC	A	55	0.0022
	B	100	
	C	88	
	D	100	
AmS	A	55	0.0073
	B	88	
	C	88	
	D	100	
RRH	A	100	0.1138
	B	88	
	C	66	
	D	100	
ELFIN	A	87	0.2042
	B	87	
	C	100	
	D	100	

Tabla 8. El valor P < 0.05 indica diferencias significativas entre las proporciones relativas de los tratamientos con respecto al testigo (0.0 mg L⁻¹). Tratamientos (mg L⁻¹ de BA): A = 0.0, B = 0.1, C = 1.0 y D = 10.0. Tratamientos (mg L⁻¹ de 2iP): A = 0.0, B = 0.1, C = 1.0 y D = 10.0

7.5.1 Efecto de las sales macronutrientes sobre el enraizamiento y de ápices *in vitro*.

Tabla 9. Efecto de la concentración de macronutrientes sobre el porcentaje de enraizamiento y, el número de raíces desarrolladas *in vitro* a partir de segmentos apicales de distintas variedades de jitomate.

Variedad	Tratamiento	Enraizamiento (%)	P	Raíces adventicias	P
AmS	A	100	0.5	15.22 ± 2.08 a	0.427
	B	100		17.33 ± 2.51 a	
	C	100		14.11 ± 2.39 a	
BP	A	77	0.2261	7.11 ± 2.37 a	0.085
	B	77		3.55 ± 1.10 a	
	C	100		7.22 ± 1.81 a	
GG	A	100	0.238	4.44 ± 1.37 a	0.029
	B	100		4.11 ± 0.85 a	
	C	88		1.44 ± 0.412 a	
PC	A	100	0.5	9.11 ± 1.73 a	0.445
	B	100		6.11 ± 2.09 a	
	C	100		7.44 ± 1.60 a	
RRH	A	100	0.5	12.67 ± 1.59 a	0.821
	B	100		7.33 ± 1.44 a	
	C	100		8.77 ± 1.69 a	

Tabla 9. El valor $P < 0.5$ indica diferencias significativas entre las proporciones relativas de los tratamientos con respecto al testigo. Tratamientos: Proporción de macronutrientes en la fórmula MS (A =100% , B = 50% y C = 25%)

Los porcentajes de brotación obtenidos a partir del empleo de diferentes medios nutritivos muestran que no existe una relación estrecha entre la concentración de sales y el porcentaje de brotación radicular, así pues para todos los casos excepto Black Prince es irrelevante la concentración de macronutrientes empleada, ya que en todos los casos se observa la formación de raíces adventicias.

En lo que respecta a la cantidad de raíces generadas, tampoco existe una relación generalizada en cuanto a la concentración de los macronutrientes y el número de estas; mas sin embargo en casos como Amish Salad y Rief Red Heart se percibe una disminución en el número de raíces conforme la concentración de los nutrientes va en decremento.

7.5.2 Enraizamiento *in vitro* y directa en sustrato/aclimatación de plántulas.

Después de 20 días en la mayoría de las variedades no se observaron diferencias entre el trasplante directo al sustrato y su aclimatación y, el enraizamiento previo *in vitro* y su aclimatación, excepto en Black Prince ($P= 0.0103$) y Amish Salad ($P= 0.0291$) en las cuales para este último método se observó mayor porcentaje de supervivencia. (Tabla 10). Los ápices (micro estacas) pudieron enraizar fácilmente *in vitro* y aclimatarse en un periodo corto (Figura 6)

Figura 6. Enraizado y aclimatación de los brotes



Fig. 6. Los ápices (microestacas) se enraizaron *in vitro* y se aclimataron a aclimatarsen en un periodo menos a 30 días. La fase de enraizamiento *in vitro* puede evitarse si los microesquejes se enraizan y aclimatan directamente en el sustrato.

Tabla 10. Efecto del método de trasplante/enraizamiento sobre la aclimatación y el establecimiento en sustrato de micro estacas de distintas variedades de jitomate.

Variedad	Método	% Supervivencia	Valor P
PC	1	98	0.2992
	2	98	
GG	1	100	0.5
	2	100	
BP	1	97	0.0103
	2	100	
AmS	1	98	0.0291
	2	100	
RRH	1	100	0.5
	2	100	

Tabla 10. El valor $P < 0.05$ indica diferencias significativas entre la comparación de 2 proporciones relativas cuando se compararon dos métodos de trasplante/aclimatación: Método 1.- Trasplante de micro estacas directamente en sustrato/aclimatación; Método 2.- Trasplante de micro estacas enraizadas previamente in vitro/aclimatación.

7.6 ESTABLECIMIENTO DE CULTIVOS EN INVERNADERO Y EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO.

Para observar el crecimiento de las plantas propagadas *in vitro* y por de semilla en condiciones de invernadero, se midió la altura y el diámetro y se compararon los promedios de las mismas (Fig. 7) Después de 5 semanas de cultivo no se observaron diferencias en el diámetro de la mayoría de las variedades, excepto para que para Japanese Black Trifele ($p= 0,001$) y Purple Calabash ($P= 0,006$) en las cuales se observó que las plantas provenientes de semilla desarrollaron un diámetro superior, comparadas con las plantas micropropagadas *in vitro* (Tabla12).

Figura 7. Cultivo semi-hidroponico de variedades de polinizacion abierta de jitomate bajo condiciones de invernadero.



Fig. 7. Cultivo semi-hidroponico de variedades de polinizacion abierta de jitomate, después de 18 semanas de crecimiento bajo condiciones de invernadero.

En lo que respecta a la altura de las plantas, tampoco se observó una diferencia significativa entre las 2 técnicas de propagación de las plántulas a excepción de Marmande ($P= 0,002$) y Brandy Wine ($P= 0,0002$) en las cuales se observó que aquellas plantas que se obtuvieron mediante la técnica de cultivo *in vitro* crecieron en promedio más que las que se obtuvieron a partir de semillas (Tabla12).

Tabla 11. Efecto de la técnica de propagación de las plántulas de distintas variedades de jitomate sobre el crecimiento y el diámetro de los tallos en un cultivo semi-hidropónico, bajo condiciones de invernadero, después de 5 semanas del trasplante.

Variedad	Técnica de propagación	Diámetro promedio	Valor p	Altura promedio (cm)	Valor p
Amish Salad	1	15.77	0.386	17.88	0.894
	2	16.27		17.77	
Black Prince	1	16.33	0.132	24.72	0.559
	2	15.22		23.65	
Green Grape	1	11.52	0.533	5.44	0.052
	2	12.30		7.32	
Rief Red Heart	1	13.44	0.127	27.03	0.533
	2	12.39		28.20	
Purple Calabash	1	10.78	0.006	22.05	0.025
	2	8.37		17.96	
Japanese	1	14.61	0.001	20.76	0.867
	2	10.86		21.00	
Marmande	1	16.91	0.018	20.46	0.002
	2	15.42		23.53	
Aunt Rubys	1	14.81	0.316	19.68	0.108
	2	13.74		24.18	
Brandy Wine	1	15.71	0.664	18.45	0.0002
	2	15.01		27.17	
Cream Sausage	1	10.24	0.071	17.12	0.066
	2	8.48		13.25	

Tabla 11. El valor $P < 0.05$ indica diferencias significativas en la comparación de 2 medias, cuando se compararon dos métodos de propagación, según el crecimiento de las plántulas en invernadero: Técnica 1.- Propagación convencional por semilla; Técnica 2.- Micropropagación *in vitro*.

Tabla 12: Efecto de la técnica de propagación de las plántulas de distintas variedades de jitomate sobre el crecimiento de los frutos, bajo condiciones de invernadero en un cultivo semi-hidropónico

Variedad	Técnica de propagación	Diámetro (cm)	P	Longitud (cm)	P	Peso (g)	P
AMISH SALAD	1	4.58±1.87	0.001907	3.80	0.0008	57.04	0.0033
	2	4.06±1.64		4.14		78.75	
AUNT RUBYS	1	5.80±1.58	< 0.05	4.84	0.0000	126.55	0.0000
	2	3.29±2.52		2.57		53.74	
BLACK PRINCE	1	5.05±1.34	0.000178	4.84	0.0449	96.02	0.0007
	2	5.54±1.36		5.04		116.77	
BRANDY WINE	1	7.87±1.58	0.000000	4.98	0.0000	201.43	0.0000
	2	5.48±2.63		4.06		115.07	
CREAM SAUSAGE	1	4.22±2.00	0.829971	5.88	0.0000	90.19	0.6447
	2	4.26±2.07		5.19		86.67	
GREEN GRAPE	1	3.51±1.52	0.000791	3.29	0.0558	26.24	0.0000
	2	4.00±1.99		3.43		48.16	
JAPANESE BLACK	1	4.83±1.73	0.000103	5.05	0.0000	95.23	0.0000
	2	4.11±1.67		4.17		64.40	
MARMANDE	1	5.32±2.17	0.000000	4.78	0.0120	110.58	0.0000
	2	7.15±1.87		5.11		189.45	
PURPLE CALABASH	1	4.73±2.03	0.000000	4.32	0.0000	91.92	0.0000
	2	7.17±1.54		5.43		193.42	
RIEF RED HEART	1	6.09±2.37	0.000000	5.37	0.0000	166.46	0.0000
	2	8.67±1.55		7.37		332.98	

Tabla 12. El valor $P < 0.05$ indica diferencias significativas en la comparación de 2 medias, cuando se compararon dos métodos de propagación, según el crecimiento de los frutos en invernadero: Técnica 1.- Propagación convencional por semilla; Técnica 2.- Micropropagación *in vitro*.

Una vez comenzada la cosecha de las diferentes variedades de jitomate (sem 17) y hasta el fin del ciclo (sem 26) y de acuerdo al grado de madurez (“ripening” = estado rompedor o, estrellado) de cada variedad en particular se cosecharon los frutos dos veces por semana (lunes y viernes), de manera constante durante el tiempo de las mediciones (Fig. 8)

Figura 8. Frutos de las variedades micropropagadas *in vitro* y se cultivadas en un sistema semi-hidropónico, bajo condiciones de invernadero.



Fig. 8. Frutos de las variedades (izq a der; arriba a abajo) Rief Red Heart, Amish Salad, Aunt Ruby's, Blanck Prince cosechados a las 12 semanas del transplante. Las plantas se micropropagaron *in vitro* y se cultivaron un sistema semi-hidropónico, bajo condiciones de invernadero.

En cuanto al diámetro del fruto, a excepción de Cream Sausage ($P=0,83$) todas las variedades evaluadas mostraron diferencias significativas. En general, Amish Salad, Aunt Ruby's, Brandy Wine y Japanese Black desarrollaron frutos más grandes cuando las plantas cultivadas se propagaron mediante la germinación directa de semillas, en comparación con las que se micropropagaron *in vitro*. Black Prince, Green Grape, Marmande, Purple Calabash y Reif Red Heart mostraron frutos con mayor diámetro cuando las plántulas se multiplicaron vegetativamente, mediante el subcultivo de segmentos nodales *in vitro*. Este mismo comportamiento se observó en cuanto a la longitud de los frutos para todas las variedades evaluadas, excepto para Amish Salad y Cream Sausage cuyos frutos se elongaron más cuando las plántulas se micropropagaron *in vitro* (Tabla 12)

En cuanto al peso fresco del fruto, solamente Cream Sausage no mostró diferencias en el efecto de procedencia de las plantas cultivadas (semillas/micropropagación). Solamente Aunt Ruby's, Japanese Black y Brandy Wine mostraron un mayor peso fresco de sus frutos cuando las plantas cultivadas se propagaron mediante la germinación directa de semillas. Excepto las mencionadas, todas las demás variedades evaluadas, mostraron un mayor peso fresco de sus frutos cuando las plantas cultivadas en el invernadero procedían de plántulas micropropagadas *in vitro*, a partir de segmentos nodales. (Tabla 12)

8. DISCUSIONES

8.1 DEFINICIÓN DE UN SISTEMA DE DESINFECCIÓN DE SEMILLAS PARA SU ESTABLECIMIENTO EN CONDICIONES DE ASEPSIA

En esta investigación no se diseñaron tratamientos para evaluar sistemáticamente la desinfección superficial y la germinación de las semillas debido a la disponibilidad limitada para la obtención del material y al razonamiento de la dificultad para establecer parámetros de comparación, dada la diversidad de orígenes entre las variedades y por ende, sus inherentes capacidades para germinar *in vitro*. La técnica de desinfección superficial utilizada cumple con los pasos y recomendaciones desarrolladas en los protocolos comunes de cultivo *in vitro* (Vazquez, 2002); Sin embargo dicha metodología se ha optimizado en el trabajo cotidiano, y forma parte del manual de operaciones del laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales del Centro de Ciencias Agropecuarias

Por lo anterior, no se realizaron pruebas comparativas entre proporciones debido que solo se implementó un método general de desinfección y, a que el interés era de establecer cultivos asépticos que luego se incrementaran mediante el subcultivo vegetativo *in vitro*. Aunque se observó una baja proporción (< 90%) de germinación para las variedades Black Prince y Reif Red Heart, la mayoría de las variedades rindieron proporciones superiores y hasta del 100 por ciento. Aunado a la ausencia visual de contaminantes superficiales, según las condiciones y el tipo de variedades evaluadas dicha metodología se adoptó como adecuada para el propósito de establecer cultivos asépticos de jitomate *in vitro*.

8.2 DEFINICIÓN DE UN MEDIO DE CULTIVO APROPIADO PARA EL ESTABLECIMIENTO DE LAS VARIEDADES A EVALUAR EN PARTICULAR.

La mayoría parte de los investigadores han evitado uso de formulaciones complejas para el cultivo *in vitro* de tomate, utilizando la formulación del medio MS, o medios modificados a partir de la misma (Bathia *et. al.*, 2004); asimismo, se ha señalado que los callos responden diferencialmente a la variación en las concentraciones de nutrientes. En la revisión que hace, este mismo autor se menciona que la adición de vitaminas distintas o las variaciones adicionales a las del medio MS y (1962) tales como las del medio B5 y, otros compuestos orgánicos (Gamborg *et. al.*, 1968) han dado resultados positivos en la capacidad morfogénica en tomate.

En esta investigación se evaluaron tres medios nutritivos que contenían variaciones contrastantes por lo menos en un aspecto importante de la formulación. El medio MS, cuya fórmula se considera de las más ricas en elementos nutritivos y, en el que solo ocasionalmente el aumento de Nitratos ha resultado benéfico (Trolinder y Goobin, 1988b); además se promueve la acepción de lo antes señalado; el medio N&N (1969) modificado con vitaminas MS y una concentración del 3% de sacarosa, cuya concentración de las sales macronutrientes característicamente se encuentran por debajo del 50% en comparación con las del MS y; el medio "Reeves" (Reeves *et.*

al. 1983) , cuya formulación contiene $\frac{1}{2}$ de los macronutrientes del MS, extra fosfato ($170 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 13 distintos compuestos orgánicos y vitaminas y una modificación actual en la concentración de sacarosa (5.0 %) que en otras especies (ej. Híbrido *Prunus pérsica*) ha reducido la vitrificación mejorado el efecto del desarrollo y la proliferación in vitro (Vázquez, *et. al.*, 2002).

Sobre lo anterior se formuló la premisa de que las variaciones en las formulaciones (principalmente macros, vitaminas y azúcar) determinarían características particulares de los tres medios nutritivos como tratamientos generales, que pudieran notarse con efectos en el crecimiento de los cultivos de los jitomates *in vitro*. Cuantitativamente, los tres medios nutritivos rindieron efectos similares, sin embargo, aunque no se midió el tamaño de las hojas, éstas crecieron notablemente en el medio MS más que en los otros dos medios, también se observó un mayor vigor en los tallos y una coloración verde más intensa y brillante. La coloración más clara y esbelta de las hojas formadas y la presencia más notoria de tricomas en los medios N&N y Reeves sugiere una mayor diferenciación y una posible capacidad para el enraizado/aclimatación en comparación con el MS, aunque ello no se evaluó sistemáticamente.

8.3 ESTABLECIMIENTO DE CULTIVOS ASÉPTICOS A PARTIR EL SUB-CULTIVO DE SEGMENTOS NODALES

Cuatro han sido las principales citocininas (zeatina, 2-iP, BA, y cinetina) que se han adicionado al medio de cultivo, y se han aplicado para la obtención de respuestas diversas en tomate que van desde la formación de tejido calloso, la embriogénesis y organogénesis a partir se sistemas de regeneración tanto directa como indirecta (Bhatia, 2004); por ejemplo se ha reportado la inducción de hasta 2.7 brotes adventicios por explante sobre hipocotilos (Chaudary *et. al.*, 2001), sin embargo, para la respuesta de brotación axilar a partir de segmentos nodales, el uso de citocininas no ha sido frecuentemente reportado.

En la presente evaluación de las variedades de jitomate, se evaluó la adición al medio de amplios rangos de concentraciones de 5 fitorreguladores: 2iP y Cinetina (amino purinas naturales); BA (amino purina N⁶-sustituida; sintética), TDZ (difencil urea tidiazol-sustituida) y, topolina (amino purina N⁶-sustituida; sintética), ello tomando en cuenta que la elongación de yemas laterales podría requerir concentraciones distintas a las aplicadas en los sistemas de regeneración, agregando que la mayoría de estudios han sido realizados sobre variedades comerciales o híbridos (Bhatia, *et. al.*, 2004).

La propuesta que dirigió el diseño de los tratamientos fue que el decapitamiento y/o el corte para el aislamiento de los explantes (segmentos nodales) podía inducir la elongación lateral de yemas, tal como se observó la etapa de establecimiento de los cultivos, pero que la adición de citocininas (capacidad de actividad distinta de este grupo de fitorreguladores seleccionado), podría fomentar la proliferación de dichas yemas: el efecto esperado era la inducción de más de una yema lateral por explante

lo cual no se observó en la mayoría de las variedades y en los rangos de concentraciones evaluadas, excepto en el caso de las concentraciones más elevadas de topolina ($10.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), donde aparecieron 2-3 brotes/explante esporádicos; sin embargo los brotes desarrollados así, mostraron marcados efectos de deformación de los tallos y las hojas.

Lo anterior sugiere una clara dificultad para el control de la dominancia apical según el sistema de multiplicación desarrollado. La aplicación de citocininas en segmentos nodales no indujo respuestas comparables a los que se han desarrollado en otras especies como *Capsicum annuum*, cuyos rendimientos (2-11 brotes/explante) pueden considerarse como notorios (Mohamed y Alsadon, 2011). Sin embargo el sistema desarrollado en la presente investigación (cultivo nodal simple) se ofrece con la misma validez de aplicación con la que se ha desarrollado en otras especies de difícil control de la dominancia apical, como en el caso de *Solanum tuberosum*. (Habib, et. al., 2004).

8.4 INDUCCIÓN DE LA BROTAÇÃO Y ENRAIZADO PREVIO A SU ACLIMATACIÓN *ex vitro*.

En todas variedades enraizadas y aclimatadas *ex vitro* se observó que los índices de supervivencia fueron cercanos o superiores al 98% lo que se podría llegar a comparar contra los índices de germinación obtenidos mediante el empleo de semillas híbridas.

La alta tasa de supervivencia (> 97%) de las plántulas aclimatadas, enraizadas *in vitro* o directamente en el sustrato en esta investigación, implicó comparativamente que los tejidos foliares incluyendo al aparato fotosintético y los estomas funcionaran correctamente, así ambos métodos pueden adoptarse de igual modo práctico para el establecimiento de las plántulas en sustrato y su aclimatación bajo las condiciones de invernadero. Sin embargo es importante señalar que la capacidad de enraizar y de aclimatación de todas las variedades evaluadas, confiere la oportunidad en el sistema de evitar el costo, el tiempo y el trabajo de una de las etapas (Etapa III: Enraizamiento) en el sistema, la cual en muchos de los casos es imprescindible para otras especies. Ello podrá brindar alguna ventaja cuando se determine el costo de las plántulas; cabe señalar que no se determinó la tasa de multiplicación la cual se prevé que no sea tan alta, debido a que el sistema de multiplicación que se ha desarrollado es hasta ahora de "brotación simple".

En este mismo sentido, en ninguno de los casos se observó una superioridad por ninguno de los tratamientos de forma aislada en cada una de las variedades, razón por la cual el empleo de uno o de otro tratamiento es igualmente recomendable en términos de supervivencia de la planta, mas no así en cuestiones económicas, propias que no son objeto de estudio en la presente investigación, mas sin embargo el reducir una semana de cultivo aséptico para la formación de las semillas se traduce en reducción del dinero empleado para tales efectos.

8.5 EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO EN INVERNADERO BAJO CULTIVO SEMI HIDROPÓNICO

Desde hace tiempo se ha observado que la multiplicación de variedades de jitomate (cv. Moneymaker) a partir de la regeneración mediante organogénesis, puede inducir cambios genéticos y epigenéticos (forma, color de pedicelo en frutos de plantas cultivadas en campo) cuando los regenerantes se han desarrollado a partir de hojas o hipocotíleos (Evans y Bravo, 1986; Bhatia, 2004). Bhatia y Ashwath (2004) evaluaron, en condiciones de invernadero, los distintos rasgos morfológicos, fisiológicos y también los relacionados con el rendimiento y la calidad de los frutos, comparando plantas regeneradas (explantes cotiledonares) *in vitro* y plantas propagadas por semilla. Ellos no observaron diferencias para los rasgos estudiados, excepto un mayor número de hojas y brotes.

Tomando en cuenta lo anterior, para la iniciación de cultivos de brotes se propuso la conveniencia del uso de yemas laterales (segmentos nodales) como una opción similar y/o alternativa al uso de semillas para el efecto de multiplicación clonal *in vitro*, debido a que ofrecen una mayor estabilidad genética (<biblio>). Dada esta base, la premisa de esta investigación sugería que las plantas propagadas *in vitro* mediante el cultivo de segmentos nodales mostrarían un crecimiento similar en el invernadero, comparado con el de las plantas propagadas a partir de semillas.

En general para el crecimiento vegetativo el resultado fue el esperado para la mayoría de las variedades evaluadas. Es importante señalar el caso de la variedad Brandy Wine, que parece que el cultivo *in vitro* fomentó el vigor de las plantas cultivadas en invernadero. No se hicieron estudios específicos para demostrar el rejuvenecimiento, pero sí se observó una consecuente disminución en el crecimiento de los frutos. Ello muestra un efecto cierto que ha sido visto en invernadero, cuando se cambian factores (luz, agua, nutrición) que favorecen el crecimiento vegetativo/reproductivo (Muñoz, 2009).

El efecto importante en el presente estudio fue el incremento generalizado que se observó en los frutos de la mayoría de las variedades cuando las plantas cultivadas en el invernadero habían sido propagadas *in vitro* mediante la elongación de yemas a partir de segmentos nodales. Aunque no se cuenta con reportes para alguna de las variedades de tomate aquí estudiadas, para otras especies (ej. manzana) se ha propuesto que el incremento de productividad puede estar relacionado con un incremento inicial (etapa vegetativa) del vigor y posterior control con la poda, y a una consecuente mayor formación de raíces, una mayor formación de área foliar y/o mayor tasa fotosintética (Jones, 1994; Bhatia y Ashwath 2004). Dado el cultivo tradicionalmente orgánico de estas variedades, y dado que las plantas micro propagadas no procedían de un régimen directo con fitorreguladores, la condición que fomentó un mejor crecimiento de frutos, es posible que fuese el condicionamiento nutricional *in vitro* mantenido posteriormente bajo fertirriego.

9. CONCLUSIONES

Se logró el establecimiento *in vitro* de cultivos asépticos de 7 distintas variedades de polinización abierta de jitomate. El porcentaje de desinfección superficial resultó del 100% y la supervivencia de las plántulas fue del mayor al 90% cuando las semillas se desinfectaron mediante un sistema común mediante el uso de NaOCl (20% V/V).

El cambio en el medio de cultivo mediante la evaluación de tres formulaciones distintas (MS, N&N y Revés) no indujo diferencias en el número de brotes laterales de segmentos nodales, en la elongación de los brotes individuales ni en el número de segmentos nodales/brote. El efecto cualitativo apreciable en el medio MS facilitó el mantenimiento continuado de los cultivos de todas las variedades evaluadas.

La adición de citocininas (Cinetina, Meta-topolina, thidiazuron, benciladenina y 2iP) no indujo la proliferación lateral de yemas, en los rangos de concentraciones evaluadas. Los cultivos pueden multiplicarse consistentemente sobre medio MS, mediante un sistema de sub cultivo nodal simple.

La reducción en las concentraciones de los macro elementos para MS (100, 75, 50%), no produce una diferencia cuantitativa en lo que a número de raíces generadas respecto, más sin embargo se observó que a menor concentración mayor es la longitud de las mismas.

Las plántulas que se enraizaron y aclimataron directamente en el sustrato (musgo: “peat-moss” LAMBERT®), antes de 30 días fueron comparadas con aquellas que se enraizaran previamente *in vitro*. Esta respuesta permite seleccionar mejor el sistemas de enraizamiento directo en sustrato y evitar una etapa (Etapa III: enraizamiento) de crecimiento *in vitro*.

Las plantas propagadas *in vitro* y cultivadas en invernadero bajo condiciones semi-hidropónicas de distintas variedades de polinización abierta de jitomate no mostraron diferencias en la elongación del tallo principal ni en su diámetro, en comparación con las plantas propagadas por semillas. Sin embargo, la mayoría de las variedades multiplicadas *in vitro* y cultivadas en invernadero produjeron frutos con un mayor crecimiento y un mayor peso fresco, en comparación con las plantas de variedades multiplicadas por semillas. Este sistema promueve la multiplicación vegetativa *in vitro* como una alternativa a evaluar en sistemas de producción intensiva cuando la búsqueda de incremento en la producción sea un interés comercial, para variedades de polinización abierta.

Se demostró la factibilidad de integrar un sistema biotecnológico de propagación *in vitro*, con un sistema de producción intensiva en invernadero. Esto para siete variedades de jitomate de polinización abierta, consideradas como exóticas. Estas variedades podrían ser una alternativa para ampliar la oferta de este producto y podrían ocupar nichos de mercado no cubiertos por las variedades normalmente cultivadas.

10. BIBLIOGRAFIA

Abdelnour-Esquivel A.; 1994; Conceptos Básicos Del Cultivo De Tejidos Vegetales CATIE Centro Agronómico Tropical De Investigación Y Enseñanza.

Bhatia, P. and Ashwath, N. 2004. Comparative performance of micropropagated and seed-grown tomato plants. *Biologia Plantarum*, 48 (4): 625-628.

Bhatia, P., Ashwath, N., Senaratna, T. and Midmore, D. 2004. Tissue Culture Studies of Tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, Vol.: 78, 1-21.

Bastida Tapia, A, 2002. Sustratos Hidropónicos. Departamento de Preparatoria Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México

Binding, H. and Krumbiegel-Schroeren, G. 1984. Clonal propagation: Shoot cultures. In: *Cell culture and somatic cell genetics of plants (Vol.1 Laboratory procedures and their applications)*. Ed. Basil, I.K. Academic Press, Inc. pp 43-67.

Bojórquez F.; 2008; "Fondos Concursables De Agricultura Protegida." Programas De Gobierno Agricultura Protegida Gobierno Del Estado De Chiapas 2007.

Borges G.M.; Ros A. C.; Castellanos R. Y.; Milanés R. S.; Velásquez F. R.; 2004; Efecto de diferentes métodos de desinfección en el establecimiento *in vitro* de *Guadua angustifolia* Kunth; *Revista Biotecnología Vegetal* Vol. 4, No. 4: 237 - 242, Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Granma. Cuba.

Borges G.M.; Estrada A.E.; Pérez R. I.; Meneses R.S.; 2009; Uso de distintos tratamientos de desinfección en el cultivo *in vitro* de *Dioscórrea alata* L. clon caraqueño *Revista Colombiana de Biotecnología*, Vol. XI, Núm. 2, diciembre, 2009, pp. 127-135 Universidad Nacional de Colombia, Colombia

Calva Calva G.; 2005; Cultivo De Células Y Tejidos Vegetales: Fuente De Alimentos Para El Futuro; *Revista Digital Universitaria* 10 De Noviembre 2005 • Volumen 6 Número 11.

Carrillo-Rodríguez, J. C., J. L. Chávez-Servia, & I. A. Pacheco-Triste. 2009. Diversidad fenotípica de tomate en Oaxaca, México. In: *VII Simposio de Recursos genéticos para América Latina y el Caribe*, 28-30 de octubre de 2009, Pucón, Chile, Vol. 1. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Ministerio de Agricultura. Pucón, Chile. pp: 222-223.

Castellanos J. Z.; Morales C. B.; 2008; Capítulo 1 Panorama de la Horticultura Protegida en México; Manual INTAGRI.

Castilla, Y.; 2005; CULTIVO DE TEJIDOS DE ROSAS (*Rosa* sp): UN ACERCAMIENTO A INVESTIGACIONES RECIENTES Cultivos Tropicales, vol. 26, núm. 4, 2005, pp. 43-47 Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) La Habana, Cuba.

Chaudary, Z., Feroz, I., Ahmed, W., Rashid, H. Mishra, B. and Quraishi, Azra 2001 Varietal response of *Lycopersicon esculentum* L. to callogenesis and regeneration. Online Journal of Biological Sciences 1 (12): 1138-1140.

CORPOICA (Corporación Colombiana De Investigación Agropecuaria), 2007; Manual Técnico; Buenas Prácticas Agrícolas En La Producción De Tomate, Bajo Condiciones Protegidas.

Domínguez, A. 1989; Abonado De Hortalizas Aprovechadas Por Sus Frutos; Madrid: Ministerio De La Agricultura, Pesca Y Alimentación.

Enríquez-Reyes, S.A.; Alcántar-González, G.; Castellanos-Ramos, J.Z.; Arjona-Suárez, E.; González-Eguiarte, D.; Lazcano-Ferrat, I. 2003; Nutrición Mineral Acoplada Al Crecimiento (Numac): Nutrición Con N Para Tomate En Invernadero 2. Curva De Concentración Crítica Y Demanda De Nitrógeno; Terra Latinoamericana, Vol. 21, Núm. 2, Abril-Junio, 2003, Pp. 177-183; Sociedad Mexicana De La Ciencia Del Suelo, A.C.Chapingo, México

Espinosa Z.C. 2004; Producción de tomate en invernadero; Memorias del IV Simposio Nacional de Horticultura. Invernaderos: Diseño, Manejo y Producción Torreón, Coah, México, Octubre 13, 14 y 15 del 2004

Evans, D.A. and Bravo, J.E. 1986. Phenotypic and genotypic stability of tissue cultured plants; In: Tissue culture as a plant production system for horticultural crops (Current Plant Science and Biotechnology in Agriculture. Ed. Zimmerman R.H., Griesbach R.J., Hammerschlag, F.A., Lawson, R.H. Martinus Nijhoff Publishers. 73-94 pp

FAO, 2008, Anuario Estadístico

Fuentes A.D; Soto N; Dubiel A; Oramas P; 1998; Estudio de las Condiciones de Cultivo para la Regeneración de Plantas de Tomate, a partir de Cotiledones y Hojas de la Variedad Campell 28; Centro de Ingeniería Genética y Biotecnológica; La Habana Cuba

García, M. 1999; Metodología para la propagación masiva *in vitro* de *Eucalyptus saligna* Sm. [Tesis de Maestría]; Universidad de La Habana.

George, E.F.; D.J.M. Puttock Y H.J. George. 1987. Plant Culture Media. Vol. 1 (Formulations and Uses). Exegetics Limited. England.

Habib, A.L., Abdulnour, J. and. Donnelly, D.J. 2004. Increased calcium availability improves potato micro propagation and microtuberization. Potato Research 47 (2004/5) 139 -150

Hernández Díaz M.I., Chailloux Laffita M.; 2001; La Nutrición Mineral Y La Biofertilización En El Cultivo Del Tomate (*Lycopersicon Esculentum* Mill); Temas De Ciencia Y Tecnología, Vol. 5, Numero 13, Enero-Abril 2001, Pp 11- 27 Instituto De Investigaciones Hortícolas, "Liliana Dimitrova", La Habana Cuba

Hurtado, D.V.; Merino, M.E 1991; Cultivo De Tejidos Vegetales. Ed. Trillas. México.

Jadan M; Lozada H., P. A.; 2010; Evaluación del efecto de auxinas, citoquininas y brasioesteroides sobre las fases de establecimiento y multiplicación del cultivo in vitro de tomate de árbol (*solanum batacea*). Escuela Superior Politécnica del Ejercito ESPE, SANGOLQUÍ, Ecuador.

Jasso Ch., C.; Alpuche S., A. G., Garza U., E.; Martínez G. M. A...; 2007 Evaluación De Cultivares De Jitomate Y Sustratos Para Hidroponía En Invernadero; XII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Ciencias Hortícolas; Revista OLERICULTURA

JLSV (Junta Local de Sanidad Vegetal) 2009; Padrón de productores de hortalizas ciclo P-V 2009.

Jones, O.P. 1994. Physiological change and apparent rejuvenation of temperate fruit trees from micro propagation. In: Physiology growth and development of plants in culture. Ed. Lumsden P.J., Nichols, J.R. and Davies W.J. Kwer Academies Pub. 323-331

Kamara K. A. 2001, Nutrición, Regulación Del Crecimiento Y Desarrollo Vegetal. Curso De Capacitación, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

Lallana V.H.; 2004. "Definición De La Fisiología Vegetal" Y "Relación De La Fisiología Vegetal Con Otras Áreas Del Conocimiento"; Fisiología Vegetal. Facultad De Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional De Entre Ríos

León G.H.M. 2001. Manual para el cultivo de tomate en invernadero. Gobierno del Estado de Chihuahua.

León G, H. M.; Arosamena D., M; EL CULTIVO DEL TOMATE PARA CONSUMO FRESCO EN EL VALLE DE CULIACAN; 1980; INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGROCOLAS (INIA) COLECCIÓN SAHR

Mohamed, M.A. and Aalsadoni, A.A. 2011. Effect of vessel type and growth regulators on micro propagation of *Capsicum annum*. *Biología Platarum* 55 (2): 370-374, 2011.

Mroginski, L; Sansberro, P; Flaschland, E.; 2004; Establecimiento De Cultivos De Tejidos Vegetales; Biotecnología Y Mejoramiento Vegetal; Ediciones INTA.

Muñoz, J.J. 2009. Manejo del cultivo del tomate en invernadero. In: Manual de producción de tomate en invernadero. Ed. Castellanos, J. Z. Intagri. 45-91 pp

Navarro G.M. 2000. Fertirrigación Del Cultivo De Chile. Curso De Capacitación. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

Núñez, P. G. 1988. La influencia del riego en el cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill), bajo el sistema de acolchado en condiciones de invernadero. Tesis de Licenciatura. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coah.

Olmos, S., Luciani, G. y Galdeano, E. 2010. Micro propagación. Biotecnología y Mejoramiento Vegetal II. Edit. INTA. Argentina. 648pp.

Páez, A.; Paz V.; López J. C.; 2000; Crecimiento y respuestas fisiológicas de plantas de tomate cv. Río Grande en la época mayo-julio. Efecto del sombreado; Rev. Fac. Agron. (LUZ). 2000, 17: 173-184

Peralta I.E.; 2000; Classification Of Wild Tomatoes: A Review; *Revista Kurtziana*; Universidad Nacional De Córdoba, Vol. 28 Pág. 45-54

Ramírez H; Lentini Z.; Vallejo C, F.A.; 2009; Evaluación y selección de un protocolo para la regeneración in vitro de la variedad de tomate Unapal-Arreboles; Acta Agronómica, Vol. 58, Núm. 1, enero, 2009, pp. 29-33 Universidad Nacional de Colombia.

Ramírez V. M.; León de Sierralta S.; Urdaneta F. A.; 1999; Evaluación de desinfectantes superficiales en el establecimiento in vitro de *Psidium guava* L. y *Psidium friedrichsthalianum* (Berg) Nierdz; Rev. Fac. Agron. (LUZ). 16: 243-25, Instituto de Investigaciones Agronómicas. Facultad de Agronomía. La Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela.

Ramos, P. M. 2005. Potencial productivo de jitomate criollo tipo riñón (*Lycopersicon esculentum* Mill.) con abonos orgánicos y biofermentados. Tesis de Maestría, Instituto Tecnológico Agropecuario de Oaxaca, Nazareno, Xoxocotlán, Oaxaca, México, 164 p.

Reeves, D.W., Horton, B.D. and Couvillon, G.A. 1983. Effect of media and pH on in vitro propagation of "Nameguard" peach rootstock. *Scientia Hort.*, 21, 352-357.

Rodrigo J. M, Rosselló F. J., Marinangeli P. A. y Curvetto N. R.; 2004; Germinación in vitro de *Rodophiala bífida* Departamento de Agronomía- Universidad Nacional de Sur. Argentina
Obtenido de:
www.calier.es/pdf/Dossier%20Tecnico%20DESPADAC%201t.pdf

Rojas Gardeñas Manuel; (1993). Control hormonal del Desarrollo de las Plantas.

SAGARPA. SIAP. 2009. Cierre de la producción agrícola. Consultado en: www.siap.gob.mx

Salisbury F. R. C (1994). Fisiología Vegetal. Editorial Iberoamericana.

Sánchez-del Castillo F.; Moreno-Pérez E. del C; Cruz-Arellanes E. L.; 2009 Producción De Jitomate Hidropónico Bajo Invernadero En Un Sistema De Dosel En Forma De Escalera; Revista Chapingo Serie Horticultura 15(1): 67- 73, 2009

Santiago J, Mendoza M, Borrego F.; 1998; Evaluación De Tomate (*Lycopersicon Esculentum*, Mill) En Invernadero: Criterios Fenológicos Y Fisiológicos; Agronomía Mesoamericana 9(1): 59-65. 1998

Shtereva, L., Atanassova, B. and Balacheva, E. 2000. *In vivo* and *in vitro* investigation of salt tolerance in three anthocyanin less mutants in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Acta Physiologiae Plantarum Vol. 22, Issue 3, pp 254-256

Silva G. M; Gámez G.H, Zavala G. F; Cuevas H. B.; 2001; Efecto de 4 fitorreguladores comerciales en el desarrollo y rendimiento de girasol; Rev. Ciencia UANL.

Sivory M. /Caso O. (1980). Fisiología Vegetal. Editorial Hemisferio Sur.

Smith, A.F.; 1994; the Tomato in America: Early History, Culture, and Cookery. University Of South Carolina Press, Columbia, S.C, USA.

Trejo-Tapia, G.; Rodríguez-Monroy, M.; 2007; Rev. Interciencia, OCT 2007, VOL. 32 Nº 10.

Trolinder N.L. and Gooding J.R. 1987. Somatic embryogenesis and plant regeneration in cotton (*Gossypium*). II. Requirements for embryo development and plant regeneration. Plant cell Tiss. Organ Cult. 12, 43-53.

Van Haeff. J. F. N.; Mondroñedo J.R; Parson M, D.B. Medina F, J.; MANUALES PARA LA EDUCACION AGROPECUARIA "TOMATES" 1981 Editorial TRILLAS.

Vásquez-Ortiz R, Carrillo-Rodríguez J.C.; Ramírez-Vallejo P.; 2010; evaluación Morfo-Agronómica De Una Muestra Del Jitomate Nativo Del Centro Y Sureste De México; Naturaleza Y Desarrollo 8 (2), 2010 49.

Vázquez, M.O., Pérez-Molphe, E.M., Moreno-Hernández, D.J.L., Pérez, G.S. 2002. Reporte de Proyecto interno terminado: Micro propagación de durazno PIAG/Fr 01-1. UAA.

Webster J. M. 1966. Production of Oat Callus and Its Susceptibility to a Plant Parasitic Nematode. Nature 212(5069):1472.

Zorzoli, R.; Cointry, E.; Prado, E.; Mroginski, L. y Picardi, L. - Regeneración de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) por cultivo in vitro de folíolos - Turrialba Vol. 38 Nº 4: 332-336 (1988) Editorial IICA (Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura).

11. ANEXOS

ANEXO A. CARACTERÍSTICAS DE LAS VARIEDADES UTILIZADAS EN LA INVESTIGACIÓN.

Tabla 13. Características de las variedades de jitomate empleadas

Variedad	Característica	
Reif Red Heart	Forma plantas altas con hojas finas y pequeñas. Origen desconocido, aunque se postula Italia como posible. Produce numerosos frutos en forma de corazón, sumamente carnosos y con mucho sabor, frutos con un peso de entre 280-340 g. y alturas mayores a los 10 cm. Crecimiento indeterminado. Planta precoz de 78 días a cosecha. Tallos y hojas muy delgados y resistentes, de un color verde opaco. Multilocular, aunque dado el gran numero de los mismos se pierde la armonía entre los mismos	
Black Prince	Forma planta fuerte gruesa y de gran porte, de un color verde muy intenso y vivas, las hojas tienden a ser carnosas y muy aromáticas, crecimiento indeterminado.. Procedente de Siberia. Forma numerosos frutos en racimos de hasta 6 individuos, con una coloración del verde intenso – café – hasta rojo muy intenso lo que le da particular tonalidad “negra”, fruto muy jugosos de sabor muy intenso. Alcanzan hasta 6 cm de diámetro y 85 g. con racimos de entre 5 y 6 frutos sin mermar la calidad de los frutos más jóvenes Cosecha a partir de los 80 días.	

Elfin	Planta de crecimiento arbustivo muy vigoroso de bajo porte; produce numerosos frutos tipo “grape”, de 1 a 4 cm en racimos de no menos de 30 ejemplares, aunque el tamaño y calidad de los mismos se ve mermado conforme mayor es el racimo. Poseen un sabor sobresaliente y sumamente dulce por lo que se aprovecha como bocadillo (“snack”) crujiente. Crecimiento determinado. Cosecha a partir de los 65 días.	
Green Grape	El fruto tiene un color verde-amarillo distintivo y mide aprox. 3.0 cm de diámetro y peso oscilante en los 30 g. Los frutos verdes se desarrollan en racimos de 6-12 unidades. Los frutos muestran un color verde pálido translucido en el interior. Son frutos muy atractivos de consumo en fresco y de un intenso sabor afrutado. Crecimiento indeterminado. Cosecha a partir de los 70 días.	
Japanese Black Trifelle	Planta muy vigorosa con hojas más grandes de lo habitual similares al cultivo de la papa. variedad de procedencia Rusa. Fruto de producción moderada de 2 a 4 por racimo, de entre 70 y 100 g de forma “triangular” o pera, por lo que son muy apreciados y alcanzan precios altos. Coloración marrón o “negra” con los márgenes verdosos. De crecimiento indeterminado. Cosecha a partir de los 90 días.	

Purple Calabash	Es una variedad tolerante a la sequía; Produce frutos aplanados que van de tamaños pequeños a medios (3-8 cm) profundamente acostillados, de colores que cambian desde un café chocolate hasta purpura oscuro. Tiene un sabor intenso. Crecimiento indeterminado. Cosecha a partir de los 85 días.	
Amish salad	Una planta muy fuerte y vigorosa que tiende al crecimiento vegetativo sin diezmar la producción. Produce racimos de 6 a 8 individuos con frutos de forma ovalada, color rosado de entre 4 y 5 cm, y pesos promedios de 45 g. con un sabor intenso y afrutado. Excelente para consumo en fresco. Cosecha a partir de los 85 días.	

Imagen. Desarrollo de diferentes variedades de jitomate exótico a las 7 semanas después del trasplante.



En ambas fotografías se muestra el desarrollo aun vegetativo de 8 variedades exóticas de jitomate a 7 semanas después de su trasplante, tanto en su parte externa como interna, ya que fue en esta semana en que se comenzó a observar los primeros indicios de madurez como es el cambio de color.

De izquierda a derecha, y de la línea superior a inferior se encuentran las variedades: Vengador, Black Prince, Plumty, Rief Red Heart, Green Grape, Amish Salad, Elfin, Aunt Ruby's.

ANEXO B. FORMULACIONES NUTRITIVAS PARA CULTIVO *in vitro*

Tabla 14. Formulación de sales nutritivas y vitaminas empleadas para la formulación de diferentes medios

	Compuesto	Medio Nutritivo mg·L ⁻¹		
		Murashigue and Skoog (MS)	Nitsch & Nitsch (N y N)	Reeves
Macronutrientes	Nitrato de Amonio NH ₄ NO ₃	1650.0	720.0	825.0
	Nitrato de Potasio KNO ₃	1900.0	950.0	950.0
	Sulfato de Magnesio MgSO ₄ 7H ₂ O	370.0	185.0	185.0
	Fosfato de Potasio KH ₂ PO ₄	170.0	68.0	85
	Cloruro de Calcio CaCl ₂ 2H ₂ O	440.0	214.0	220.0
	Fosfato de Sodio NaH ₂ PO ₄ H ₂ O	-	-	170.0
Micronutrientes	Fe. EDTA	43.0	37.3	43.0
	Ácido Bórico H ₃ BO ₃	6.2	10.0	6.2
	Cloruro de Cobalto CoCl ₂ 6H ₂ O	0.025	-	0.025
	Sulfato Cúprico CuSO ₄ 5H ₂ O	0.025	0.025	0.025
	Sulfato de Manganeso MnSO ₄	16.9	18.9	16.9
	Ácido Molibdico (sal Sódica) NaMoO ₄ 2H ₂ O	0.25	0.25	0.25
	Ioduro de Potasio KI	0.83	-	0.83
	Sulfato de Zinc ZnSO ₄ 7H ₂ O	8.6	10.0	8.6
Vitaminas	Glicina	2.0	-	-
	Myo-Inositol	100.0	-	100
	Ácido Nicotínico	0.5	-	0.5
	Piridoxina-HCl	0.5	-	2.0
	Tiamina-HCl	0.1	-	1.0
	Pantotenato de Ca	-	-	1.0
	Ácido fólico	-	-	0.5
	Biotina	-	-	1.0
	Cloruro de Colina	-	-	1.0
	Ac. P-amino benzoico	-	-	0.5
	Riboflavina	-	-	0.5
	Vitamina B12	-	-	0.0015
	Glicina	-	-	2.0

Tabla 14. Solución nutritiva sugerida para la elaboración de diferentes medios nutritivos, así como sus vitaminas empleadas en el cultivo *in vitro* de Jitomate

ANEXO C. FORMULACION NUTRITIVA EN $\text{meq}\cdot\text{L}^{-1}$ PARA CULTIVO DE JITOMATE EN INVERNADERO

Tabla 15. Aporte de aniones y cationes en $\text{meq}\cdot\text{L}^{-1}$ de acuerdo a la etapa fenológica del cultivo

Anión/catión		Formación 1er racimo $\text{meq}\cdot\text{L}^{-1}$	Formación 3er racimo $\text{meq}\cdot\text{L}^{-1}$	Formación 5to racimo $\text{meq}\cdot\text{L}^{-1}$	Formación <5to racimo $\text{meq}\cdot\text{L}^{-1}$
Nitrato de Potasio	HNO_3	6	8	10	12
Amonio	NH_4^+	0,5	0,5	0,5	0,5
Fosfato	H_2PO_4^-	1,5	1,5	1,5	1,5
Potasio	K^+	3,5	5,5	7	8,5
Calcio	Ca^+	8	8	8	9
Magnesio	Mg^{++}	2	3	4	4
Sulfato	$\text{SO}_4=$	3	6	6	8
Carbonato	HCO	1	1	1	1
Sodio	Na^+	5	5	5	5
cloro	Cl^-	3	3	5	5

Tabla 15. Solución nutritiva sugerida para cuatro etapas de desarrollo de tomate en invernadero de tecnología intermedia bajo condiciones de hidroponía, calculado en $\text{meq}\cdot\text{L}^{-1}$ según Castellanos en el 2008.

Es importante mencionar que a las cantidades antes mencionadas fue necesario el restar los mili equivalentes presentes en el agua del riego, a fin de poder determinar la cantidad total de fertilizante a aplicar.

ANEXO D. FORMULACION DE SALES MINERALES PARA CULTIVO DE JITOMATE EN INVERNADERO

Tabla16. Aporte en gramos o mililitros de diferentes sales minerales, como formulación nutritiva para desarrollo de jitomate en invernadero de acuerdo a la etapa fenológica del cultivo

		Formación 1er racimo	Formación 3er racimo	Formación 5to racimo	Formación <5to racimo
Acido nítrico	HNO ₃	40	282	282	282
Ácido Fosfórico	H ₃ PO ₄	108	108	108	108
Ácido Sulfúrico	H ₂ SO ₄	81			
Nitrato de Calcio	Ca(NO ₃) ₂	370	370	370	470
Nitrato de Potasio	KNO ₃	182	81	283	384
Sulfato de Magnesio (hepta - hidratado)	MgSO. 7H ₂ O	197	320	443	443
Cloruro de Potasio	KCl	97	164	201	164
Sulfato de Potasio	KSO ₄	15	15	20	20
Micro elementos	"Fetrilon Combi2"		183	96	183

Tabla 16. Cantidad de gramos de fertilizante aplicados por cada 1000 litros de agua. Calculados a partir de la pureza de los mismos y la concentración de mili equivalentes de aniones y cationes para cada fertilizante en particular Según cálculos de Steiner (1980) citado y modificado por Castellanos en el 2008, para invernaderos de cualidades semejantes al empleado en la presente investigación.