



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES**

CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS.

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

TESIS

MICROPROPAGACIÓN Y EVALUACIÓN EN INVERNADERO DE VARIEDADES DE
JITOMATE DE POLINIZACIÓN ABIERTA CON FRUTOS NO ROJOS

PRESENTA

Luis Raúl Reyes Morales

MAESTRÍA EN CIENCIAS ÁREA BIOTECNOLOGÍA VEGETAL

TUTOR (ES)

M. en C. Otilio Vázquez Martínez (Centro de Ciencias Agropecuarias, UAA)

Dr. Eugenio Pérez MolpheBalch.

COMITÉ TUTORAL

Dr. Fidel Guevara Lara

Aguascalientes, Ags., 09 de Junio del 2015.



UNIVERSIDAD AUTONOMA
DE AGUASCALIENTES

LUIS RAÚL REYES MORALES
ALUMNO DE LA MAESTRÍA EN CIENCIAS
ÁREA BIOTECNOLOGÍA VEGETAL
PRESENTE.

Estimado alumno:

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: **"Micropropagación y evaluación en invernadero de variedades de jitomate de polinización abierta con frutos no rojos"**, 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.

ATENTAMENTE

Aguascalientes, Ags., 05 de junio de 2015

"SE LUMEN PROFERRE"

EL DECANO

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'José de Jesús Ruiz Gallegos'.

M. en C. JOSÉ DE JESÚS RUIZ GALLEGOS

c.c.p. - Archivo.
JJRG.yscd



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES

FORMATO DE CARTA DE VOTO APROBATORIO

MC. JOSÉ DE JESÚS RUÍZ GALLEGOS
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS
P R E S E N T E

Por medio de la presente, como miembro del Comité Tutorial designado del estudiante **LUIS RAÚL REYES MORALES**, con ID **15359**, quien realizó la tesis titulada: **MICROPROPAGACIÓN Y EVALUACIÓN EN INVERNADERO DE VARIEDADES DE JITOMATE DE POLINIZACIÓN ABIERTA CON FRUTOS NO ROJOS**, y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia, me permito emitir el **VOTO APROBATORIO**, para que él pueda proceder a imprimirla, y así como continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, me permito enviarle un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E

"Se Lumen Proferre"

Aguascalientes, Ags., a 5 de junio de 2015.

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

M. en C. Otilio Vázquez Martínez
Miembro del Comité Tutorial (Cotutor)

c.c.p.- Interesado
c.c.p.- Secretaría de Investigación y Posgrado
c.c.p.- Jefatura del Depto. de Química
c.c.p.- Consejero Académico
c.c.p.- Minuta Secretario Técnico



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES

FORMATO DE CARTA DE VOTO APROBATORIO

MC. JOSÉ DE JESÚS RUÍZ GALLEGOS
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS
P R E S E N T E

Por medio de la presente, como miembro del Comité Tutorial designado del estudiante **LUIS RAÚL REYES MORALES**, con ID **15359**, quien realizó la tesis titulada: **MICROPROPAGACIÓN Y EVALUACIÓN EN INVERNADERO DE VARIEDADES DE JITOMATE DE POLINIZACIÓN ABIERTA CON FRUTOS NO ROJOS**, y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia, me permito emitir el **VOTO APROBATORIO**, para que él pueda proceder a imprimirla, y así como continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, me permito enviarle un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E

"Se Lumen Proferre"

Aguascalientes, Ags., a 5 de junio de 2015.

Dr. Eugenio Pérez Molphe Balch
Miembro del Comité Tutorial (Cotutor)

c.c.p.- Interesado
c.c.p.- Secretaría de Investigación y Posgrado
c.c.p.- Jefatura del Depto. de Química
c.c.p.- Consejero Académico
c.c.p.- Minuta Secretario Técnico



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES



ANIVERSARIO
UAA

FORMATO DE CARTA DE VOTO APROBATORIO

M. en C. José de Jesús Ruiz Gallegos
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS

P R E S E N T E

Por medio del presente como Tutor designado del estudiante **LUIS RAUL REYES MORALES** con ID **15359** quien realizó *la tesis* titulada: **MICROPROPAGACIÓN Y EVALUACIÓN EN INVERNADERO DE VARIEDADES DE JITOMATE DE POLINIZACIÓN ABIERTA CON FRUTOS NO ROJOS**, y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia, me permito emitir el **VOTO APROBATORIO**, para que *el* pueda proceder a imprimirla, y así como continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, me permito enviarle un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E

"Se Lumen Proferre"

Aguascalientes, Ags., a 05 de junio de 2015.

Dr. Fidel Guevara Lara
Miembro del Comité Tutorial (Asesor)

c.c.p.- Interesado
c.c.p.- Secretaría de Investigación y Posgrado
c.c.p.- Jefatura del Depto. de Química
c.c.p.- Consejero Académico
c.c.p.- Secretario Técnico

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Consejo de Ciencia y Tecnología CONACYT por la beca otorgada con número 472311 y a la Universidad Autónoma de Aguascalientes por su apoyo en el desarrollo de estos estudios.

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a mis padres Raúl y Leticia, por ser el gran ejemplo de esfuerzo, perseverancia y dedicación de vida.

A mi esposa Anahí por ser mi cómplice y compañera en todos mis sueños, anhelos y locuras.

A mi hija Camila y al bebé que viene en camino por ser el motivador intrínseco que me permite esforzarme cada día más.

ÍNDICE GENERAL

I.	Marco Teórico.	9
II.	Justificación.	21
III.	Objetivos general y específicos.	22
IV.	Metodología.	24
V.	Resultados.	29
VI.	Discusiones.	67
VII.	Conclusiones	75
VIII.	Referencias.	77

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tratamientos con Benciladenina (BA) en ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) y Agua de Coco (AC) en ($\text{mL}\cdot\text{L}^{-1}$), aplicados a las variedades *heirloom*; Black Prince (BP), Cream Sausage (CS) y Pruden’s Purple (PP), así como a la variedad comercial Aníbal (AN)._____25

Tabla 2. Tratamientos con Benciladenina (BA), Cinetina (CIN), Metatopolina (*mT*), en ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), aplicados a las variedades *heirloom*; Black Prince (BP), Cream Sausage (CS) y Pruden’s Purple (PP), así como a la variedad comercial Aníbal (AN)._____25

Tabla 3. Resultados de la desinfección de semillas para el establecimiento de cultivos asépticos, aplicados a las variedades *heirloom*; Black Prince (BP), Cream Sausage (CS) y Pruden’s Purple (PP), así como a la variedad comercial Aníbal (AN)._____29

Tabla 4. Resultados del efecto de los recipientes de intercambio gaseoso y el medio de enraizamiento sobre la formación de puntas radicales, aplicados a las variedades *heirloom*; Black Prince (BP), Cream Sausage (CS) y Pruden’s Purple (PP), así como a la variedad comercial Aníbal (AN)._____51

Tabla 5. Resultados de la aclimatación de plántulas previamente enraizadas; con y sin tapa de intercambio gaseoso, aplicada a las variedades *heirloom*; Black Prince (BP), Cream Sausage (CS) y Pruden’s Purple (PP), así como a la variedad comercial Aníbal (AN).____52

Tabla 6. Resultados de las mediciones de frutos por racimo, peso, longitud ecuatorial, longitud transversal, altura, anchura y volumen desplazado, realizados a la primer cosecha de las variedades *heirloom*; BP, CS y PP, así como a la variedad comercial AN, cultivadas en un invernadero semi-hidropónico con el objetivo de evaluar la calidad del tomate.____54

Tabla 7. Resultados de las mediciones de frutos por racimo, peso, longitud ecuatorial, longitud transversal, altura, anchura, volumen desplazado, firmeza, colorimetría, realizados

a la segunda cosecha de las variedades *heirloom*; BP, CS y PP, así como la variedad comercial AN, cultivadas en un invernadero semi-hidropónico con el objetivo de evaluar la calidad del tomate. _____55

Tabla 8. Resultados de las pruebas de; fenoles solubles, actividad antioxidante, antocianinas, acidez titulable, pH y sólidos solubles, realizadas a la primer cosecha de las variedades *heirloom*; BP, CS, PP, así como a la variedad comercial AN, cultivadas en un invernadero semi-hidropónico, con el objetivo de evaluar la calidad del tomate. _____56

Tabla 9. Resultados de las pruebas de; fenoles solubles, actividad antioxidante, antocianinas, acidez titulable, pH y sólidos solubles, realizadas a la segunda cosecha de las variedades *heirloom*; BP, CS, PP, así como a la variedad comercial AN, cultivadas en un invernadero semi-hidropónico, con el objetivo de evaluar la calidad del tomate. _____58

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Efecto del AC / BA ($\text{mL}\cdot\text{L}^{-1}$ / $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), a partir de segmentos nodales de la variedad comercial Aníbal, cultivados sobre medio MS, después de 28 días de cultivo. __30

Figura 2. Efecto del agua de coco (AC) y la Benciladenina (BA), sobre; 1) porcentaje de brotación, 2) segmentos nodales, 3) longitud e 4) inducción de callo; a partir de segmentos nodales de la variedad comercial Aníbal (AN), cultivados sobre medio MS, después de 28 días de cultivo. Las líneas verticales sobre las barras representan el error estándar con un nivel de significancia $\alpha = 0.05$. _____31

Figura 3. Efecto del agua de coco (AC) y la Benciladenina (BA), sobre; 1) porcentaje de brotación, 2) segmentos nodales, 3) longitud e 4) inducción de callo; a partir de segmentos nodales de la variedad *heirloom* Black Prince (BP), cultivados sobre medio MS, después de

28 días de cultivo. Las líneas verticales sobre las barras representan el error estándar con un nivel de significancia $\alpha = 0.05$._____33

Figura 4. Efecto del AC / BA ($\text{mL}\cdot\text{L}^{-1}$ / $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), a partir de segmentos nodales de la variedad tipo *heirloom* Black Prince, cultivados sobre medio MS, después de 28 días de cultivo._____34

Figura 5. Efecto del AC / BA ($\text{mL}\cdot\text{L}^{-1}$ / $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), a partir de segmentos nodales de la variedad tipo *heirloom* Cream Sausage, cultivados sobre medio MS, después de 28 días de cultivo._____34

Figura 6. Efecto del agua de coco (AC) y la Benciladenina (BA), sobre; 1) porcentaje de brotación, 2) segmentos nodales, 3) longitud e 4) inducción de callo; a partir de segmentos nodales de la variedad *heirloom* Cream Sausage (CS), cultivados sobre medio MS, después de 28 días de cultivo. Las líneas verticales sobre las barras representan el error estándar con un nivel de significancia $\alpha = 0.05$._____36

Figura 7. Efecto del agua de coco (AC) y la Benciladenina (BA), sobre; 1) porcentaje de brotación, 2) segmentos nodales, 3) longitud e 4) inducción de callo; a partir de segmentos nodales de la variedad *heirloom* Pruden's Purple (PP), cultivados sobre medio MS, después de 28 días de cultivo. Las líneas verticales sobre las barras representan el error estándar con un nivel de significancia $\alpha = 0.05$._____38

Figura 8. Efecto del AC / BA ($\text{mL}\cdot\text{L}^{-1}$ / $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), a partir de segmentos nodales de la variedad tipo *heirloom* Pruden's Purple, cultivados sobre medio MS, después de 28 días de cultivo._____39

Figura 9. Efecto de la Benciladenina (BA), Cinetina (CIN) y Metatopolina (*mT*) sobre; 1) porcentaje de brotación, 2) segmentos nodales, 3) longitud e 4) inducción de callo; a partir de segmentos nodales de la variedad comercial Aníbal (AN), cultivados sobre medio MS,

después de 28 días de cultivo. Las líneas verticales sobre las barras representan el error estándar con un nivel de significancia $\alpha = 0.05$._____41

Figura 10. Efecto de la Benciladenina (BA), Cinetina (CIN) y Metatopolina (*mT*) sobre; 1) porcentaje de brotación, 2) segmentos nodales, 3) longitud e 4) inducción de callo; a partir de segmentos nodales de la variedad *heirloom* Black Prince (BP), cultivados sobre medio MS, después de 28 días de cultivo. Las líneas verticales sobre las barras representan el error estándar con un nivel de significancia $\alpha = 0.05$._____43

Figura 11. Efecto de los reguladores Benciladenina, Cinetina y Metatopolina ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), a partir de segmentos nodales de la variedad tipo *heirloom* Black Prince, cultivados sobre medio MS, después de 28 días de cultivo._____44

Figura 12. Efecto de los reguladores Benciladenina, Cinetina y Metatopolina ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), a partir de segmentos nodales de la variedad tipo *heirloom* Cream Sausage, cultivados sobre medio MS, después de 28 días de cultivo._____44

Figura 13. Efecto de la Benciladenina (BA), Cinetina (CIN) y Metatopolina (*mT*) sobre; 1) porcentaje de brotación, 2) segmentos nodales, 3) longitud e 4) inducción de callo; a partir de segmentos nodales de la variedad *heirloom* Cream Sausage (CS), cultivados sobre medio MS, después de 28 días de cultivo. Las líneas verticales sobre las barras representan el error estándar con un nivel de significancia $\alpha = 0.05$._____46

Figura 14. Efecto de la Benciladenina (BA), Cinetina (CIN) y Metatopolina (*mT*) sobre; 1) porcentaje de brotación, 2) segmentos nodales, 3) longitud e 4) inducción de callo; a partir de segmentos nodales de la variedad *heirloom* Pruden’s Purple (PP), cultivados sobre medio MS, después de 28 días de cultivo. Las líneas verticales sobre las barras representan el error estándar con un nivel de significancia $\alpha = 0.05$._____48

Figura 15. Efecto de los reguladores Benciladenina, Cinetina y Metatopolina ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), a partir de segmentos nodales de la variedad tipo *heirloom* Pruden’s Purple, cultivados sobre medio MS, después de 28 días de cultivo. _____49

Figura 16. Recipientes con; 1) tapa de intercambio gaseoso y 2) sin tapa de intercambio gaseoso, utilizados en el enraizamiento de las variedades *heirloom*; Black Prince (BP), Cream Sausage (CS) y Pruden’s Purple (PP), así como a la variedad comercial Aníbal (AN). _____51

Figura 17. Monitoreo de; 1) Longitud (mm) y 2) Diámetro (mm) del tallo, aplicados a las variedades *heirloom*; Black Prince (BP), Cream Sausage (CS) y Pruden’s Purple (PP), así como a la variedad comercial Aníbal (AN). A partir de la semana 5 del trasplante al invernadero hasta la semana 11. Las líneas verticales sobre las barras representan el error estándar con un nivel de significancia $\alpha = 0.05$. _____53

Figura 18. Maduración y caracterización de los frutos de la primer cosecha de la variedad comercial Aníbal, provenientes de plántulas cultivadas *in vitro* a partir de segmentos nodales y trasplantadas a un invernadero semi-hidropónico. _____60

Figura 19. Maduración y caracterización de los frutos de la primer cosecha de la variedad tipo *heirloom* Black Prince, provenientes de plántulas cultivadas *in vitro* a partir de segmentos nodales y trasplantadas a un invernadero semi-hidropónico. _____61

Figura 20. Maduración y caracterización de los frutos de la primer cosecha de la variedad tipo *heirloom* Cream Sausage, provenientes de plántulas cultivadas *in vitro* a partir de segmentos nodales y trasplantadas a un invernadero semi-hidropónico. _____62

Figura 21. Maduración y caracterización de los frutos de la primer cosecha de la variedad tipo *heirloom* Pruden’s Purple, provenientes de plántulas cultivadas a partir de semillas y trasplantadas a un invernadero semi-hidropónico. _____63

Figura 22. Maduración y caracterización de los frutos de la primer cosecha de la variedad comercial Aníbal, provenientes de plántulas cultivadas a partir de semillas y trasplantadas a un invernadero semi-hidropónico. _____64

Figura 23. Maduración y caracterización de los frutos de la primer cosecha de la variedad tipo *heirloom* Black Prince, provenientes de plántulas cultivadas a partir de semillas y trasplantadas a un invernadero semi-hidropónico. _____65

Figura 24. Maduración y caracterización de los frutos de la primer cosecha de la variedad tipo *heirloom* Cream Sausage, provenientes de plántulas cultivadas a partir de semillas y trasplantadas a un invernadero semi-hidropónico. _____66

Figura 25. Probable fitotoxicidad expresada en las hojas de las plantas de la variedad tipo *heirloom* Pruden’s Purple desarrolladas a partir plántulas cultivadas *in vitro* y semilla, y trasplantadas a un invernadero semi-hidropónico. _____71

Figura 26. Desarrollo de frutos que presentan deformación tipo *catface*, provenientes de la variedad tipo *heirloom* Pruden’s Purple, desarrolladas a partir plántulas de semilla, y cultivadas en un invernadero semi-hidropónico. _____72

Figura 27. Desarrollo de frutos que presentan deformación tipo “*cracking*”, provenientes de la variedad tipo *heirloom* Black Prince, desarrolladas a partir plántulas de semilla, y cultivadas en un invernadero semi-hidropónico. _____73

RESUMEN

Se establecieron cultivos asépticos de tres variedades de jitomate tipo *heirloom*; Black Prince, Cream Sausage y Pruden's Purple, así como una variedad comercial Aníbal, esto a partir de semillas que fueron desinfectadas y cultivadas en medio de Murashige y Skoog (MS), (1962). Se multiplicó el material vegetal proveniente de éstos cultivos por medio de ápices y segmentos nodales sobre MS. Se obtuvo la cantidad necesaria de material vegetal para llevar a cabo dos experimentos con reguladores del crecimiento vegetal; en el primero, se probaron 3 tratamientos con Benciladenina y agua de coco, en el segundo se probaron 3 tratamientos con Benciladenina, Cinetina y metaTopolina. El comportamiento fue semejante en los dos experimentos; el tratamiento control produjo una mayor longitud en los brotes, mientras que a mayor concentración de citocininas la elongación disminuyó. Las variedades tipo *heirloom* Cream Sausage y Pruden's Purple mostraron diferencias significativas en cuanto a la producción de segmentos nodales en el primer y segundo experimento respectivamente. Ningún experimento produjo brotación múltiple. Las variedades analizadas mostraron alta capacidad de enraizamiento en medio MS adicionado con el 50% de sales macronutrientes y $20 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de sacarosa, produciendo una supervivencia de las plántulas aclimatadas del 100%, las cuales fueron trasplantadas a un invernadero semihidropónico. Se monitoreó el desarrollo de las plantas midiendo el diámetro y longitud del tallo y se comparó entre plantas de provenientes de semilla. El crecimiento fue semejante sin importar el origen de cada variedad empleada. Se realizaron pruebas para evaluar la calidad de los frutos maduros que provinieron de cultivo *in vitro*, así como de semilla, los resultados fueron semejantes para cada variedad sin embargo la variedad tipo *heirloom* Black Prince, produjo antocianinas a diferencia de la variedad comercial.

SUMMARY

Aseptic cultures were established from three types of *heirloom* varieties; Black Prince, Cream Sausage and Pruden's Purple, as well as a commercial variety Anibal, from seeds that were disinfected and cultured in Murashige and Skoog medium (MS), (1962). The plant material was multiplied from these crops through apexes and nodal segments on MS. The required amount of plant material was obtained to perform two experiments with plant growth regulators; in the first experiment, 3 treatments with benzyladenine and coconut water were tested, in the second experiment 3 treatments with benzyladenine, Kinetin and metaTopolin tested. The behavior was similar in both experiments; control treatment produced a greater length in shoot, while at higher cytokinin concentration decreased elongation. Cream type heirloom varieties Pruden's Purple Sausage and show you significant differences in the production of nodal segments in the first and second experiment respectively. No experiment produced multiple sprouting. Varieties tested showed high rooting ability on MS medium supplemented with 50% macronutrient salts and $20 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ sucrose, producing a survival of 100%. Acclimatized plantlets were transplanted to a semi hydroponic greenhouse. Development of plants was monitored by measuring the diameter and length of the stem and compared between plants from seed. Growth was similar regardless of the origin of each variety tested. Tests were conducted to evaluate the quality of the ripe fruits that came from *in vitro* culture and seed, the outcome were similar for each variety but the Black Price's heirloom kind variety, produced anthocyanins unlike the commercial variety.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

I. MARCO TEÓRICO

I.1 Tomate

El tomate o jitomate pertenece a la familia Solanaceae. El nombre botánico del tomate es *Solanum lycopersicon L.* Es una planta diploide con $2n=24$ cromosomas (Bhatia *et al.*, 2004). Labate *et al.* (2007) menciona que, el nombre actual del tomate es derivado de “Tomatl”, la palabra para ésta planta en el idioma nativo de los aztecas. Sin embargo, no existen registros o escrituras de las tribus peruanas antiguas que hayan mencionado al tomate como un fruto importante en su dieta; inclusive no existe una palabra que signifique tomate. Por su parte Bail y Lindhuot (2007), indican que los tomates fueron domesticados en América; sin embargo, el sitio original de domesticación y los eventos tempranos de su domesticación son poco claros. Dos hipótesis han avanzado para el lugar original de la domesticación del tomate, uno en Perú y el otro en México. Aunque la prueba definitiva por el tiempo y el lugar de domesticación aún falta, se presume que México es la región más probable de domesticación y Perú como el centro de diversidad para especies silvestres. Mansouret *et al.* (2009), mencionó que ingresó a Europa en el siglo XVI y se diseminó primero en el Mediterráneo resultando en miles de cultivares disponibles actualmente. Apoyando a la evidencia, también existe la relación entre la introducción del tomate a través de las conquistas de México y Perú. Es posible que el primer herbario italiano que acuñara al tomate haya sido el de Matthioli (1544), en el cual implica una considerable introducción temprana del tomate por su declaración que ya había sido “degustado en Italia con aceite, sal y pimienta”. La precocidad de esta fecha, favorece a México en su oriundez, teniendo en cuenta; la toma de la ciudad de México en 1521, contra la conquista de Perú en 1531. Para 1623 se conocían cuatro tipos de tomates: rojo, amarillo, naranja y dorado (Labate *et al.*, 2007).

A pesar de su uso como fuente de alimento en Europa del sur, especialmente en Italia, en los países europeos del norte, el tomate fue relegado como una curiosidad de jardín durante un siglo; principalmente por el miedo a su toxicidad, una noción basada en la presencia de glicoalcaloides venenosos en el follaje y en el fruto de otros miembros de la familia de las

solanáceas tale como; el beleño, la mandrágora y la belladona, a la cual el tomate comparte cierto parecido morfológico; tradicionalmente, tanto los jitomates cultivados así como los silvestres se han considerado dentro del género *Solanumlycopersicon L*, en la familia de las solanáceas (Labateet *al.*, 2007).

La reputación del tomate fue de alguna forma mejorada por los autores ingleses en la década de 1750, cuando el botánico Miller le da el nombre de *Lycopersiconesculentum*, que significa, “melocotón comestible lobo”; el cultivo de tomate para venta data de 1880 en Europa, pero su valor verdadero se descubrió hasta 1822, cuando se describieron las consideraciones para su cultivo. La creciente popularidad del tomate como fuente alimenticia alentó la producción de nuevos cultivos. En 1863 ya había un listado de 23 cultivos de tomate (Labateet *al.*, 2007).Bhatiaet *al.* (2004), mencionan que los cultivos son muy versátiles y se producen ya sea frescos para el mercado o para procesamiento. La producción y consumo ha crecido muy rápido durante 25 años. Es uno de los principales cultivos vegetales que ha alcanzado una popularidad tremenda durante el último siglo. Crece en casi todos los países del mundo (en el campo, invernaderos e invernaderos con malla sombra). Por su naturaleza es una planta perenne, pero es cultivada anualmente. El objetivo de cultivarlo se ha llevado por cuatro fases empezando con producción para cosecha en los 70’s, seguido de una producción de resistencia e incremento de vida de anaquel en los 80’s y luego para calidad nutricional y sabor desde los 90’s hasta ahora (Mansouret *al.*, 2009).

En la actualidad, son consumidos en mayores cantidades en los países desarrollados que en comparación con los países en desarrollo y por tanto puede ser denominado como un cultivo de lujo (Bhatiaet *al.*, 2004).México posee el primer lugar en exportaciones de tomate, seguido por Turquía, Estados Unidos, la unión europea, Canadá y China, mientras que Estados Unidos posee el primer lugar en importaciones (Labateet *al.*, 2007).

Es uno de los productos agrícolas de mayor producción a nivel nacional e internacional; tan solo en el 2010 la producción anual en México ascendió a 2 277 791 toneladas, producción lograda por diversos sistemas productivos que van desde campo abierto hasta invernaderos

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

tecnificados, a nivel mundial ocupa el sexto lugar en producción y un consumo promedio de 19.18 kg/persona/año. Sin embargo, a pesar de esta producción y consumo, que coloca a México en el décimo primer lugar mundial en producción de este fruto, cifra que refleja los problemas que se tienen para su producción, tales como las sequías, heladas, salinidad de suelos, plagas y enfermedades asociadas a su cultivo (Guzman-Plazola *et al.*, 2011). En el 2011, se sembraron 54 554 hectáreas, las cuales produjeron un volumen total de 1 872 482 toneladas, cifra considerablemente menor a la obtenida en el 2010, lo cual muestra un descenso en la producción debido a algunos de los factores antes mencionados, los cuales pueden ser resueltos mediante la implementación de técnicas eficientes de cultivo, así como el uso de tecnologías como son los sistemas intensivos de cultivo a nivel agrícola, de la misma forma, es importante el uso de técnicas de laboratorio a escalas agrícolas que puedan asegurar el abastecimiento de plantas para evitar la pérdida de cosechas en caso de heladas o pérdidas de cultivos por otros factores climáticos (INEGI, 2012).

Los tomates de invernadero más comunes que hay en el mercado incluyen el bola y los populares TOV's (tomates en su planta, o Tomatoes on the Vine, por su nombre en inglés). Éstos últimos se han convertido en los tomates de invernadero predominantes en años recientes. Los productores están buscando y experimentando de manera agresiva, con variedades de especialidad y dándoles diferentes nombres, para aumentar las ventas de los producidos en invernadero; la expansión de los tomates de invernadero en las últimas dos décadas ha llevado a la diferenciación del mercado fresco, agregando más variedades de los sembrados en campo, para satisfacer una creciente necesidad del consumidor por variedad en el producto (AMHPAC, 2009).

Los tomates cultivados comercialmente representan sólo una pequeña proporción de las miles de variedades de tomate que todavía existen. La reducción dramática en el número de variedades de un alimento dado que ha crecido comercialmente (acompañado por el aumento de la previsibilidad del mercado y la calidad, así como a menudo precios más bajos) fue un fenómeno que afectó mucho más que a los tomates, incluyendo todo, desde las manzanas y el maíz a las gallinas y cerdos (Jordan, 2007).

Hoy en día, hay una muy vasta cantidad de variedades de tomate en las principales cosechas, con crecientes niveles de producción de tomates en racimo, coctel, cherry, roma y uva en todos los colores y tamaños. Los investigadores han estado experimentando con las variedades *heirloom*. A pesar de los esfuerzos por la introducción de este producto al mercado, no hay actualmente cultivares de tomate que se hayan desarrollado apropiadamente en campo abierto ó en invernadero (AMHPAC, 2009).

Para recibir la denominación *heirloom*, una variedad de jitomate debe cumplir 3 requisitos; ser capaz de reproducirse por semilla, haber sido introducida con cincuenta años de anticipación y tener su propia historia. El término en sí, generalmente se aplica a variedades que son capaces de ser fecundadas por el polen y que hayan existido antes de 1940, cuando la agricultura industrial se difundiera dramáticamente en Estados Unidos. El término no indica que las variedades sean nativas, de hecho los tomates no son nativos de América del norte, sino de México y Sudamérica y muchas variedades *heirloom*; como por ejemplo, la Caspian Pink, fueron desarrolladas en Rusia. También son valorados por su sabor y belleza. Los tomates heirloom han cambiado, de ser alimentos producidos y consumidos en un ambiente enteramente privado a alimentos consumidos en lugares públicos como en restaurantes y tiendas de autoservicio. El material genético esencial para la expansión tardía de variedades comerciales disponibles, persistió debido a la motivación por el sabor de estos tomates y hasta cierto punto para preservar la biodiversidad (Jordan, 2007).

I. 2 El cultivo de tejidos vegetales

Se le llama cultivo de tejidos vegetales al conjunto de técnicas que permiten el establecimiento, mantenimiento y desarrollo de cualquier parte de una planta, desde una célula hasta un organismo completo, bajo condiciones artificiales, asépticas y controladas. Es una herramienta invaluable para la resolución de problemas básicos y aplicados en la biología vegetal, ya que por una parte ofrece una serie de sistemas modelo ideales para la investigación fisiológica, bioquímica genética y estructural, y por otro lado tiene una aplicación práctica en la clonación, conservación y manipulación in vitro de cualquier material vegetal. Se basa en tres principios básicos, de cuya comprensión y manipulación depende del éxito o fracaso de cualquier trabajo en este campo; estos son, la elección del

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

explante, elección del medio y condiciones de cultivo y primordialmente condiciones asépticas (Pérez-Molpheet *al.*, 1999).Bhatia *et al.* (2004), mencionan que el cultivo de tejidos ha progresado inmensamente desde su nacimiento en 1930, cuando los científicos utilizaron esta técnica para hacer crecer células en cultivo. Actualmente, es usada para muchos diferentes propósitos tales como la inducción de callos, cultivo de anteras, cultivo de protoplastos y embriogénesis somática entre otros.

Los meristemas apicales y axilares (contenidos dentro de las llamadas yemas), al ser de manera natural los puntos de crecimiento en los vegetales, tienen la capacidad de formar nuevos brotes. Esa capacidad natural la mantienen cuando se establecen y cultivan *in vitro*. Debido a lo anterior, el cultivo de yemas apicales o axilares es una manera sencilla de obtener nuevos brotes, los cuales pueden enraizarse y producir así nuevas plantas. Este sistema de propagación se basa en la formación de nuevos brotes a partir de meristemas preexistentes, por lo que no implica fenómenos de dediferenciación y rediferenciación celular como los que ocurren en la organogénesis y embriogénesis somática. La propagación por cultivo de meristemas y yemas es un sistema de regeneración menos complejo que cuando esto se hace por medio de organogénesis o embriogénesis somática. Es un sistema ideal para la propagación clonal, ya que ofrece la máxima estabilidad genética, lo cual no sucede siempre en la organogénesis y embriogénesis somática. El sistema es relativamente sencillo por lo que no requiere de demasiada experimentación para encontrar las condiciones adecuadas. Sin embargo, la propagación por yemas en general es más lenta y menos productiva que la organogénesis y la embriogénesis somática. El sistema de cultivo de meristemas, solo o combinado con termoterapia o quimioterapia, permite la obtención rápida de plantas libres de patógenos, incluso de virus y viroides. Esto tiene una enorme importancia sobre todo en cultivos que se propagan vegetativamente, ya que es la única forma de obtener material sano. Esta metodología se ha aplicado con mucho éxito en la producción de plantas de clavel, papa y cítricos libres de virus; el cultivo de yemas o meristemas facilita el transporte de material vegetal sin el acarreo de problemas fitosanitarios. En el cultivo de yemas axilares, el tamaño del explante no es determinante ya que solo se requiere que éste lleve una o más yemas axilares, a partir de las cuales se dará la producción de brotes. Este es el método más sencillo para la micropropagación de plantas,

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

y puede ser acoplado a otros sistemas cuando se requiere incrementar de manera segura el material. Por ejemplo, una vez obtenida una planta libre de patógenos, esta puede propagarse por yemas y después de varios ciclos incrementar exponencialmente el número de individuos (Pérez-Molpheet *al.*, 1999).

Para el cultivo de ápices, se toman explantes apicales de 4 - 10 mm de longitud, los cuales contienen además del meristemo, varios primordios foliares así como tejido vascular diferenciado. Este método es más sencillo que el anterior debido a la manipulación de explantes más grandes y a la mayor probabilidad de supervivencia de los mismos. Sin embargo, este método no es aplicable cuando se pretende obtener plantas libres de patógenos. Entre los factores internos que controlan el desarrollo de los diferentes tejidos de una planta destacan los llamados reguladores del crecimiento vegetal, también conocidos como hormonas vegetales o fitohormonas. Son compuestos orgánicos sintetizados por la propia planta, que en muy pequeñas cantidades alteran el crecimiento o los patrones de desarrollo de los tejidos vegetales. Se conocen además compuestos sintéticos que tienen actividad similar, se clasifican en 5 grupos básicos dependiendo de su estructura química y su efecto fisiológico: auxinas, citocininas, giberelinas, ácido abscísico y etileno. La respuesta de un tejido al cultivo *in vitro* es el producto de la interacción de los reguladores del crecimiento endógenos (producidos por el propio tejido) y aquellos exógenos añadidos al medio. De acuerdo a esto, cada tejido puede responder de manera diferente a una misma concentración de reguladores del crecimiento, esto a causa de diferencias en el contenido de reguladores endógenos (Pérez-Molpheet *al.*, 1999).

Las citocininas son derivados de la adenina y son sintetizadas en tejidos jóvenes y raíces, poseen dos propiedades que las hacen muy útiles para el cultivo *in vitro* de tejidos vegetales; estimulan la división celular y rompen la latencia de las yemas axilares haciéndolas brotar. Las citocininas naturales más comunes son la zeatina, la isopentiladenina (2iP), el ribósido de zeatina y la meta-topolina (*mT*), las sintéticas más utilizadas en el cultivo *in vitro* de tejidos vegetales benciladenina (BA) y cinetina (Pérez-Molpheet *al.*, 1999).

La propagación en masa del tomate se ha intentado a través del uso de varias técnicas, incluyendo cultivo de ápices, embriogénesis somática, organogénesis directa de explantes intactos o cultivo de protoplastos. El éxito de la respuesta de regeneración en tomate se ha determinado por depender ampliamente en el genotipo, explante y reguladores de crecimiento vegetal utilizados en el medio de cultivo (Bhatia *et al.*, 2004).Steinitz *et al.* (2006), mencionan que las plántulas de tomate crecen en cultivos generando nuevos brotes después de la decapitación del ápice. Las plántulas muestran esta habilidad aunque aún llevan un cotiledón después de la decapitación o cuando son decapitadas por debajo del nodo cotiledonario. Desde la inducción de nuevos meristemos apicales en la herida así como en la elongación subsecuente de un brote son controlados por factores (sustancias de crecimiento) producidos en cantidades suficientes entre los tejidos adyacentes y órganos distantes, la formación de brotes adventicios de remplazo sucede en plántulas decapitadas aun cuando son plantadas en medios sin reguladores de crecimiento vegetal. Los segmentos del hipocótilo también generan brotes adventicios *in vitro*, sin embargo, necesitan de reguladores de crecimiento vegetal adicionados al medio de cultivo. Por su parte Bazaldúa-Muñoz *et al.* (2008) indican que la aclimatación de plántulas en condiciones *in vitro* a condiciones *ex vitro* es el periodo más crítico en la micropropagación, ya que durante el cultivo *in vitro* tienen condiciones de alta humedad relativa (entre 85y 100%), generalmente baja radiación, carencia de CO₂, presencia de fuentes de carbono y reguladores del crecimiento en el medio; mismas que inducen a la planta a desarrollar una estructura y fisiología anormales, ya que entre otros aspectos, sus raíces son muy vulnerables al daño físico, la tasa de fotosíntesis es muy baja y su aparato estomático es poco funcional, acompañado este último de cambios en el tamaño, la forma y la densidad estomático. Durante este cambio de condiciones tan drástico las plantas mueren, principalmente debido a la elevada tasa de transpiración y adicionalmente por la ausencia de una fuente de carbono, así como por el daño mecánico a las raíces; ocasionado por el sustrato.

El desarrollo de un protocolo eficiente y efectivo en términos de costo para la propagación en masa de plántulas de alta calidad de cultivo de tejidos vegetales de tomate puede ayudar a reducir el costo por plántula. Un buen sistema de regeneración de plantas *in vitro* puede

tesis tesis tesis tesis tesis

también ayudar a mejorar a fondo la resistencia a enfermedades de los cultivos comerciales importantes a través de la ingeniería genética (Bhatia *et al.*, 2004).

I.3 El cultivo de tomate en invernadero

Uno de los problemas más significativos que se ha observado en la producción de tomate a campo abierto, es la dificultad en el manejo de los factores que influyen en el desarrollo del cultivo, entre los que se pueden mencionar están, cambio climático, sequías recurrentes, abatimiento de mantos freáticos, pérdida de humedad relativa, temperaturas extremas, incremento de la radiación solar, los cambios extremos de temperatura, la deficiencia o excesos de agua como resultado de altas precipitaciones y suelos mal drenados, los que generalmente propician la presencia de enfermedades y consecuentemente, un abuso en el uso de fungicidas para su prevención y control (Velazco-Hernández *et al.*, 2004).

Para aumentar la calidad del tomate, en los últimos años se han implementado sistemas especiales de producción que incluyen: invernadero, hidroponía, fertirrigación y uso de productos químicos y otras sustancias que estimulan el desarrollo vegetal (García *et al.*, 2009). Las ventajas principales que se tienen con el uso de invernaderos son: precocidad de cosechas, aumento del rendimiento, permite la posibilidad de obtener cosechas fuera de temporada, se obtienen frutos de mayor calidad, ahorro de agua, mejor control de plagas y enfermedades, siembra de variedades selectas con rendimientos máximos y la posibilidad de obtener dos o tres cosechas al año (Santiago *et al.*, 1998).

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. 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 (Jaramillo *et al.*, 2007).

La hidroponía es una técnica para el desarrollo del cultivo en el que su sistema radical se desarrolla sin suelo, ya sea en agua o en un sustrato inerte, con la particularidad que debe proporcionársele al sistema radical, agua, minerales y oxígeno suficientes para el óptimo desarrollo de la planta. La hidroponía ha sido utilizada para el desarrollo de los cultivos más sensibles a enfermedades y con mayor rentabilidad económica, sin embargo, actualmente todavía se tienen muchas dudas sobre las características físicoquímicas de algunos sustratos y su efecto en el desarrollo, producción y calidad de frutos. En México, la hidroponía empezó a desarrollarse desde hace aproximadamente veinte años, y dada las circunstancias de una técnica relativamente nueva, se empezaron a utilizar sustratos de importación muy eficientes pero con algunos inconvenientes, como la adquisición y los altos costos, tales como la agrolita, la lana de roca, perlita, el “peatmoss”, sin embargo, y dada la situación económica y del desconocimiento en el manejo por los productores, se hace necesario buscar por alternativas de sustratos que no impliquen, altos costos y de fácil manejo, por ejemplo, el “tezontle”, “tepetztl” y la fibra de coco, que han sido excelentes sustratos en las diferentes especies hortícolas (Velazco-Hernández *et al.*, 2004).

La selección del sustrato para un cultivo permite optimizar la producción en los viveros y evitar el agotamiento del suelo, el cual ha sido el principal sustrato empleado. La caracterización de las propiedades físicas y químicas de los sustratos, o medios de crecimiento, son cruciales para su uso efectivo y en gran medida condiciona el potencial productivo de las plantas, pues constituyen el medio en el que se desarrollarán las raíces, las cuales tienen gran influencia en el crecimiento y desarrollo de las plantas (López-Pérez *et al.*, 2005).

Las principales propiedades químicas que se deben determinar en un sustrato son: pH, conductividad eléctrica, capacidad de amortiguamiento, capacidad de intercambio catiónico, nutrimentos disponibles en la solución, elementos pesados y compuestos fitotóxicos (Díaz, 2004).

La cantidad de agua usada directamente en las reacciones de fotosíntesis es pequeña comparada con la transpirada o almacenada por las plantas en cualquier tiempo dado, la

condición hídrica de la planta influye severamente en el crecimiento de la misma y en la producción de biomasa, en particular a través de sus efectos en la expansión de la hoja y raíz (Santiago *et al.*, 1998).

El pH y la conductividad eléctrica, los nutrimentos disponibles en la solución y los elementos pesados se pueden determinar en el extracto de saturación. El pH de un sustrato se prefiere que sea ligeramente ácido (5.5-6.5) y la conductividad eléctrica que no sea mayor de $2.0 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$ (Díaz, 2004).

Las fases del desarrollo del tomate son; fase inicial, comienza con la germinación de la semilla y se caracteriza por el rápido aumento en la materia seca; la planta invierte su energía en la síntesis de nuevos tejidos de absorción y fotosíntesis (1 a 21 días), fase vegetativa, ésta inicia a partir de los 21 días después de la germinación y dura entre 22 a 49 días antes de la floración. Requiere mayores cantidades de nutrimentos para satisfacer las necesidades de las hojas y ramas en crecimiento y fase reproductiva, inicia a partir de la fructificación, dura entre 30 a 40 días y se caracteriza porque el crecimiento de la planta prácticamente se detiene y los frutos extraen de la planta los nutrientes necesarios para su crecimiento y maduración (Jramillo *et al.*, 2007).

I.4 Parámetros de calidad

Una práctica muy importante en el invernadero es la observación del desarrollo de las plantas; para poder tomar determinaciones basadas en estas observaciones, es necesario que se obtengan datos objetivos y cuantificables. Para ello se ha desarrollado una metodología para evaluar el crecimiento del cultivo y determinar si se encuentra en balance entre su condición vegetativa y su condición reproductiva. Los parámetros que se miden en la planta de tomate para realizar el monitoreo del crecimiento son longitud del crecimiento, grosor del tallo, longitud de la hoja más reciente madura, distancia de la cabeza al ramillete en floración, distancia entre el racimo cuajado completo y el racimo en floración y cuajado, y por último el número de hojas en la planta (Castellanos, 2009). Mansouret *al.* (2009) mencionan que, hoy en día, sin embargo, para evaluar la calidad química, nutricional y de frescura para venta de los tomates es esencial un objetivo de cosecha para satisfacer las

demandas del mercado. Debido al fenómeno del calentamiento global y el incremento de temperatura, es primordial producir cosechas que pueden tolerar altas temperaturas y soportar los cambios climáticos en el mundo.

La calidad final de los frutos está definida por sus características físicas (color, firmeza, tamaño, forma, pérdida de peso), sus características químicas (contenido de sólidos solubles, pH, acidez titulable, relación azúcares/ácidos), y su calidad nutricional (contenido de vitaminas y minerales). Colectivamente estas características contribuyen a la impartición del sabor, la textura, el color y otras características que constituyen la calidad del fruto (Castellanos, 2009).

I.5 Importancia Nutricional

Una pieza de jitomate de tamaño promedio (148 g) cuenta con solo 35 calorías. Contiene aproximadamente 20-50 mg de licopeno en 100 g de fruta (Bhatia *et al.*, 2004).

Las principales vitaminas presentes son la A y C y menores cantidades de vitamina D, así como algunas solubles en agua; también provee cantidades moderadas de folato y potasio, así mismo contiene carbohidratos, fibra, complejos de sabor, minerales, proteínas, grasas y glicoalcaloides en la dieta. Contiene nutrientes que previenen enfermedades, por ejemplo: desintoxican el organismo, promueven el crecimiento y permiten un funcionamiento adecuado del sistema inmune así como incrementan el hematocrito, eritrocitos y leucocitos, otros componentes del tomate incluyen el ácido clorogénico, flavonoides, plastoquinonas, tocoferol y xantofilas (Labate *et al.*, 2007).

Las antocianinas (flavonoides) se han utilizado para el tratamiento de enfermedades relacionadas con la edad, y podrían haber evolucionado para proteger a las plantas del daño oxidativo de la luz solar (Motohashi y Sakagami 2009).

Cuando el tomates se cocina, libera los componentes benéficos (licopeno, glutatión, vitaminas A y C) y también facilita su absorción en el tracto gastrointestinal (Salawu, 2010).

El licopeno es parte de la familia de pigmentos conocidos como carotenoides, los cuales son compuestos naturales que producen color a las frutas y verduras. Es el antioxidante más potente y protege a los humanos de radicales libres que degradan muchas partes del cuerpo; también se sabe que previene el cáncer (Bhatia *et al.*, 2004).

Con respecto al aroma, se ha observado que su principal componente (el volátil Z-3-hexenal) se encuentra en una concentración 31 % mayor en tomates madurados en planta que cuando la cosecha es anticipada con el fin de lograr un mayor potencial de almacenamiento. En cuanto al sabor son importantes los azúcares, que constituyen aproximadamente el 60% de los sólidos solubles, los ácidos orgánicos, aminoácidos, lípidos y minerales, mientras algunos investigadores han sugerido que la relación sólidos solubles/acidez titulable es importante para definir las diferencias en el aroma entre cultivares de tomate, otros indican que el aroma de los frutos puede ser mejorado incrementando el contenido total de azúcares y ácidos. Generalmente, un incremento en estos compuestos resulta en un correspondiente aumento en la intensidad del aroma, lo que no necesariamente implica una mejora en la calidad del mismo (Gómez y Camelo, 2002).

Se le conoce como grados Brix, a las sustancias solubles en agua que reflejan un alto porcentaje de la calidad de sólidos totales que contienen los frutos. A mayor valor es más deseable; un valor de 4.0 es considerado como bueno. Además existe una correlación indirecta entre sólidos solubles y firmeza, a mayor concentración de éstos es menor la firmeza (Santiago *et al.*, 1998).

II. JUSTIFICACIÓN

El tomate (*SolanumlycopersiconL*) es una de las hortalizas de fruto más importantes en el mundo. Es posible establecer un nuevo mercado para productores de variedades no comerciales de jitomate que son apreciadas por su autenticidad, propiedades organolépticas y fisicoquímicas, que son poco comunes y conocidas, y que se encuentran prácticamente ausentes en el mercado. Al mismo tiempo se puede recuperar y conservar la biodiversidad que éstas variedades representan. Esto a través de una herramienta biotecnológica como lo es el cultivo de tejidos vegetales, se pretende el desarrollo de protocolos efectivos y eficientes para la propagación masiva de plántulas de variedades de jitomate tipo *heirloom* con fruto no rojo. Por otro lado, la producción intensiva en invernadero ofrece una gran cantidad de ventajas con respecto a los métodos tradicionales. Por éste motivo, resulta de interés el ligar los sistemas de propagación *in vitro*, con sistemas de cultivo intensivo en invernaderos semi-hidropónicos, llegando hasta la producción del fruto. De ésta manera se obtendrá un paquete tecnológico completo para el manejo de éstas variedades.

III: OBJETIVO GENERAL Y OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Objetivo General:

Desarrollar un sistema de multiplicación *in vitro* para diferentes variedades de tomate tipo *heirloom* con frutos no rojos; evaluar su crecimiento y algunas propiedades de calidad de los frutos cosechados en un invernadero semi-hidropónico.

Objetivos específicos:

1. Establecer cultivos asépticos de las diferentes variedades de jitomate a partir de semillas.
2. Multiplicar el material vegetal a partir de segmentos nodales obtenidos de los cultivos asépticos.
3. Llevar a cabo un experimento con reguladores del crecimiento de plantas.
4. Inducir el enraizamiento de los brotes obtenidos, aclimatar las plántulas y establecerlas bajo condiciones de invernadero.
5. Cultivar las plantas en un sustrato adecuado y evaluar su crecimiento y producción bajo condiciones semi-hidropónicas en invernadero.
6. Evaluar los parámetros más comunes de calidad de los frutos cosechados.

Descripción del material vegetal empleado:

Se trabajó con 3 variedades tipo *heirloom* no rojas, y una variedad comercial (Aníbal), con el objetivo de estudiar las respuestas de ambos a los objetivos planteados; los cuales se describen a continuación:

1. Aníbal (AN). Es un híbrido comercial que cuenta con frutos con forma de corazón ligeramente alargados de color rojo, uniformes de tamaños grandes y extra grandes, perfecta para las exigencias del mercado, muy buena maduración al aplicar etileno, tomate indeterminado tipo saladette,
2. Black Prince (BP). Procedente de Siberia, es el más popular y apreciado de los tomates negros. Originalmente introducido en Irkutsk, Rusia y es considerado como un “tomate Siberiano verdadero”, crece muy bien en climas fríos, produce frutos

jugosos, de sabores frutales muy ricos, alcanzan hasta 6cm de diámetro y llegan a pesar en promedio 85g.

3. Cream Sausage (CS).La planta es un arbusto muy productivo, no necesita replantarse, en un productor prolífico que genera frutos de 3 pulgadas de largo, con un color amarillo cremoso y una protuberancia en el extremo apical. De buen sabor dulce, excelente para su uso en salsas.
4. Pruden's Purple (PP).Es una planta vigorosa, producen muchos frutos aplanados libres de imperfecciones de hasta 400g, los frutos son de color rosa-púrpura con un sabor excelente.



IV. METODOLOGÍA

Etapa I. Desinfección y establecimiento de cultivos *in vitro*.

Se obtuvieron semillas de distintas variedades *heirloom* (de polinización abierta) y comerciales. Se desinfectaron sumergiéndolas durante 1 minuto en etanol al 80% (v/v), luego se agitaron durante 15 minutos en una solución al 20% (v/v) de blanqueador comercial a base de hipoclorito de sodio (Cloralex[®]) adicionando 0.1% (v/v) de Tween 80 (polyoxietilensorbitán; Phytotechlaboratories[®]). Se sembraron las semillas sobre medio Murashige y Skoog MS (Murashige y Skoog, 1962) y se incubaron a 25°C bajo condiciones de fotoperiodo (16/8) y $32 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ de intensidad lumínica.

Etapa II. Multiplicación.

Establecimiento de cultivos *in vitro* a partir de segmentos nodales y/o brotes apicales.

A partir de cultivos asépticos se obtuvieron explantes de ápices de 30mm y/o segmentos nodales de 0.7cm, conteniendo una yema lateral 0.5cm del entrenudo basal y 0.2 cm del entrenudo superior a la yema y se colocaron sobre el medio Murashige y Skoog MS (Murashige y Skoog, 1962), se incubaron a 25°C bajo condiciones de fotoperiodo (16/8) y $32\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ de intensidad lumínica.

Efecto de las citocininas para la inducción de la brotación lateral en segmentos nodales.

Experimento 1.

A partir de los cultivos asépticos se obtuvieron segmentos nodales de 0.7cm, conteniendo una yema lateral 0.5cm del entrenudo basal y 0.2cm del entrenudo superior a la yema y se colocarán sobre el medio MS, se adicionaron con 3.0% de sacarosa y $6\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de agar y distintas concentraciones de Benciladenina y agua de coco (Tabla 1). El agua de coco se obtuvo de cocos frescos, se calentó a ebullición y luego se filtró al vacío; se conservó en congelación hasta su uso. Los segmentos nodales se incubaron a 25°C bajo condiciones de fotoperiodo de 16 horas de luz por 8 de oscuridad (16/8) y $32\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ de intensidad lumínica. Las observaciones se hicieron durante 4 semanas.

Experimento 1

Tratamientos	
BA	AC
0.0	0.0
0.1	100
1.0	200.0
10.0	400

Tabla 1. Tratamientos con Benciladenina (BA) en ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) y Agua de Coco (AC) en ($\text{mL}\cdot\text{L}^{-1}$), aplicados a las variedades *heirloom*; Black Prince (BP), Cream Sausage (CS) y Pruden’s Purple (PP), así como a la variedad comercial Aníbal (AN).

Experimento 2.

A partir de los cultivos asépticos se obtuvieron segmentos nodales 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 colocarán sobre el medio MS, se adicionaron con 3.0% de sacarosa y $7 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de agar y distintas concentraciones de Benciladenina, Cinetina y Metatopolina (Tabla 2). Los segmentos nodales se incubaron a 25°C bajo condiciones de fotoperiodo (16/8) y $32 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ de intensidad lumínica. Las observaciones se hicieron durante 4 semanas.

Experimento 2

Tratamientos			
BA	CIN	mT	TOTAL
0.0	0.0	0.0	0.0
0.333	0.333	0.333	1.0
1.0	1.0	1.0	3.0
2.0	2.0	2.0	6.0

Tabla 2. Tratamientos con Benciladenina (BA), Cinetina (CIN), Metatopolina (mT), en ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), aplicados a las variedades *heirloom*; Black Prince (BP), Cream Sausage (CS) y Pruden’s Purple (PP), así como a la variedad comercial Aníbal (AN).

Etapa III. Enraizamiento.

Se tomaron ápices de 3.0cm y se colocaron sobre medio MS (1/2 de sales macronutrientes), adicionado $20\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de sacarosa y $7.0\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de agar, a un pH de 5.8 y se colocaron en recipientes de cultivo con y sin tapa de intercambio gaseoso (C174), se incubaron a 25°C bajo condiciones de fotoperiodo (16/8) y $32\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ de intensidad lumínica (las tapas de intercambio gaseoso tienen una abertura con un filtro de propileno de 1.15 cm de diámetro). Las observaciones se hicieron después de una semana de incubación.

Siembra de semillas para el invernadero.

Se sembraron 29 semillas de cada variedad sobre un sustrato adecuado (turba (peat-moss) adicionada con Previcur[®] N (Bayer CropScience) y Confidor[®]), para establecerlas directamente en el invernadero y se mantuvieron bajo condiciones de alta humedad adicionando agua a un pH de 5.8. Se calculó el porcentaje de germinación a las 2 semanas de siembra.

Etapa IV. Aclimatación de plántulas previamente enraizadas *in vitro*.

Se pasaron las plántulas previamente enraizadas a macetas individuales que contenían una mezcla de sustrato (turba adicionada con Previcur[®] N (Bayer CropScience) y Confidor[®]) y se mantuvieron bajo condiciones de alta humedad relativa a 25°C y un fotoperiodo (16/8) y $32\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ de intensidad lumínica. Se disminuyó paulatinamente la humedad relativa de las macetas realizando perforaciones en la tapa de las macetas hasta descubrir completamente las plántulas a los 22 días desde el traspaso.

Etapa V y VI. Cultivo en invernadero (Crecimiento vegetativo y reproductivo).

Se trasplantaron las plántulas de variedades aclimatadas a “slabs” de fibra de coco a una densidad aproximada de $2.0\text{-}3.0$ plantas $\cdot\text{m}^{-2}$ y fueron acomodadas aleatoriamente tanto las plántulas de semilla como las de *in vitro*; se colocaron 12 plántulas de semilla así como 12 de *in vitro* por cada variedad.

A partir del trasplante las plántulas se fertirrigaron diariamente por goteo con una solución nutritiva (7-12-40(+2)) que se ajustó a un pH de 5.8 con ácido sulfúrico; hasta el drene de

la solución. La proporción de los nutrientes de la solución nutritiva se cambió en cuatro etapas basadas en el desarrollo reproductivo según el método de preparación de soluciones y la forma de aplicación descrita por Castellanos (2009). La cantidad y frecuencia del riego se realizaron según las condiciones climáticas particulares y se controlaron por medio del monitoreo del volumen de riego a razón de 4 L al día por planta de la solución nutritiva.

Se aplicaron de manera preventiva insecticidas y fungicidas, de acuerdo a las concentraciones recomendadas para cada producto. El entutorado se realizó después de 3 semanas del trasplante, se empleó hilo de rafia y se marcó a los 27 días del trasplante, la medición de la altura y diámetro del tallo se hizo semanalmente. Se realizó la poda de los brotes laterales desde el día del trasplante, los deshojes se realizaron cada 15 días. Desde el inicio de la formación de racimos se asistió la polinización mecánicamente cada día entre 10 y 11 de la mañana o cuando la temperatura osciló a 20 °C y con una humedad relativa menor del 60% y mayor del 40%; para tal efecto se golpearon los cables de sostén durante un minuto.

Etapa VII. Cosecha y medición de parámetros de calidad.

Se realizaron mediciones en los frutos de longitud ecuatorial, longitud transversal, altura y anchura de los frutos con un vernier digital, se midió el volumen desplazado en probetas y vasos de precipitado graduados y el peso se midió en una balanza granataria. La firmeza se midió con un penetrómetro manual digital FruitHardnessTesterSilverado y se hicieron tres medidas por tomate. El color se midió con un colorímetro Minolta y se tomaron 3 lecturas por tomate.

Los tomates considerados maduros para consumo de cada variedad, se molieron en licuadora y la pasta resultante se hizo pasar por un papel filtro, el filtrado se usó para la prueba de contenido de sólidos solubles en el cuál se usó un refractómetro Bausch&Lomb; con el filtrado también se realizó la prueba de pH el cuál se midió con un potenciómetro de la marca Hanna.

Para la determinación de fenoles solubles totales, se pesaron 3.5 g de la pasta de tomate, que se extrajeron con 10 mL de metanol; 500µL de éste extracto se hicieron reaccionar con reactivo de Folin-Ciocalteau 2 N, cómo se indicó en el método de Singleton *et al.*, 1999; las muestras se leyeron en un espectrofotómetro Thermo Fisher Scientific.

Se determinó la actividad antioxidante equivalente a Trolox por el método 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), en el cuál se pesó 1.0 g de la pasta que se extrajo con 10 mL de metanol; 100 µL de éste extracto se hicieron reaccionar con el reactivo DPPH cómo lo indicaron Brand-Williams *et al.*, 1995 y Fukumoto y Mazza, 2000; las muestras se leyeron en un espectrofotómetro Thermo Fisher Scientific.

Se realizó la determinación de antocianinas equivalente a iones flavilo como lo indican Abdel-Aal y Hucl (1999), en la cual se pesó 1.5 g de la pasta, que se extrajo con 25 mL de etanol acidificado; las muestras se leyeron en un espectrofotómetro Thermo Fisher Scientific.

Se realizó la prueba de acidez titulable, en la que se pesaron 10 g de pasta, se diluyeron y se tituló con NaOH 0.1M cómo se indicó en Official Methods of Analysis of AOAC International, (2002).

V. Resultados

Etapas 1. Desinfección y establecimiento de cultivos *in vitro*.

Se desinfectaron 35 semillas de cada variedad, se sembraron en medio de cultivo y se obtuvo el porcentaje de germinación, así mismo el porcentaje de contaminación; tanto para las variedades *heirloom*, como para la variedad comercial (Tabla 3).

Germinación de Semillas

Variedad	Cantidad de Semillas	Germinación (%)	Contaminación (%)
AN	35	100.00	0.00
BP	35	88.57	0.00
CS	35	94.29	0.00
PP	35	91.43	0.00

Tabla 3. Resultados de la desinfección de semillas para el establecimiento de cultivos asépticos, aplicados a las variedades *heirloom*; Black Prince (BP), Cream Sausage (CS) y Pruden’s Purple (PP), y la variedad comercial Aníbal (AN).

Etapas 2. Establecimiento de cultivos *in vitro* a partir de segmentos nodales y/o brotes apicales.

Se propagó el material vegetal por medio de subcultivos de ápices y segmentos nodales en medio MS, de las variedades de tomate seleccionadas, para contar con la cantidad de material vegetal suficiente para ser utilizados en los experimentos subsecuentes en los que se involucran reguladores del crecimiento.

Etapas 2. Efecto de las citocininas para la inducción de la brotación lateral en segmentos nodales.

Para la variedad comercial Aníbal; no se observó brotación múltiple, expuesta a los diferentes tratamientos con agua de coco y Benciladenina (Tabla 1). En todos los tratamientos se obtuvo un brote por explante.

En el primer experimento, el porcentaje de brotación no mostró una diferencia significativa, se obtuvo una productividad de al menos 75% en todos los tratamientos (Figura2, inciso1).

El tratamiento con la concentración de AC / BA ($100 \text{ mL}\cdot\text{L}^{-1} / 0.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) de Benciladenina, obtuvo el mayor porcentaje de brotación (Figura 1).



Figura 1. Efecto del AC / BA ($\text{mL}\cdot\text{L}^{-1} / \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), a partir de segmentos nodales de la variedad comercial Aníbal, cultivados sobre medio MS, después de 28 días de cultivo.

El análisis estadístico del número de segmentos nodales por brote con respecto a los tratamientos mostró una diferencia significativa ($P < 0.05$). La concentración con la menor producción de segmentos nodales fue; AC / BA ($400 \text{ mL}\cdot\text{L}^{-1} / 10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$); al generar un promedio de 1.2 segmentos nodales por brote (Figura 2, inciso 2).

El análisis estadístico de la longitud de los brotes con respecto a los diferentes tratamientos mostró una diferencia significativa. En la figura 2 inciso 3, se observa que la concentración de $400 \text{ mL}\cdot\text{L}^{-1} / 10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, produjo los brotes de menor longitud en promedio 11.65 mm.

Se observó una diferencia significativa entre los tratamientos en la inducción de callo, debida a que no hubo formación de tejido calloso en el tratamiento control.

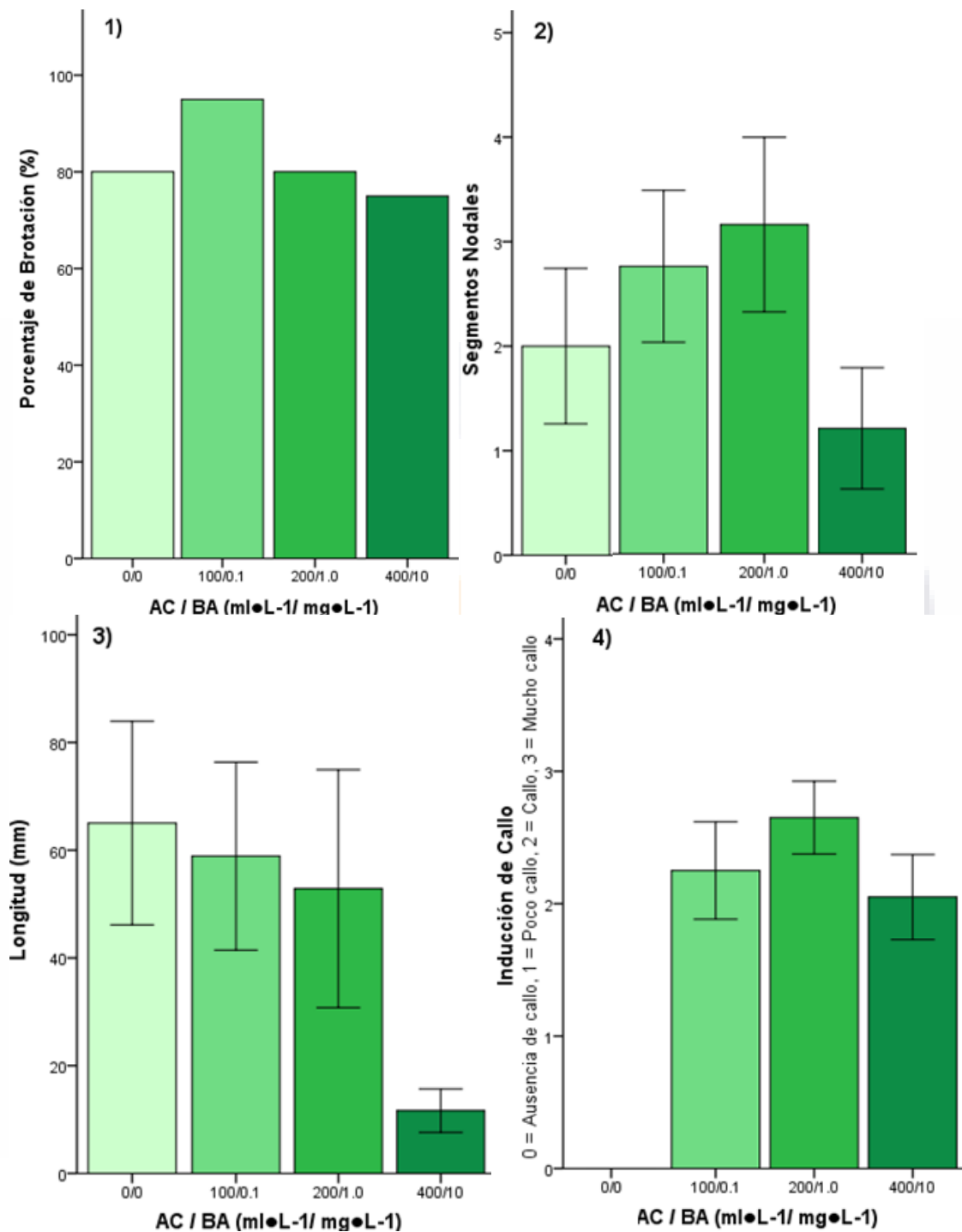


Figura2. Efecto del agua de coco (AC) y la Benciladenina (BA), sobre; 1) porcentaje de brotación, 2) segmentos nodales, 3) longitud e 4) inducción de callo; a partir de segmentos nodales de la variedad comercial Aníbal (AN), cultivados sobre medio MS, después de 28 días de cultivo. Las líneas verticales sobre las barras representan el error estándar con un nivel de significancia $\alpha = 0.05$.

Para la variedad *heirloom*Black Prince no se observó brotación múltiple, cultivada sobre MS adicionado con agua de coco y Benciladenina (Tabla 1). En todos los tratamientos se obtuvo sólo un brote por explante.

El porcentaje de brotación de segmentos nodales no mostró una diferencia significativa, se obtuvo una productividad de al menos 80% en todos los tratamientos (Figura 3, inciso 1). El tratamiento control, obtuvo el mayor porcentaje de brotación (Figura 4).

El análisis estadístico del número de segmentos nodales por brote con respecto a los tratamientos, mostró una diferencia significativa ($P < 0.05$). La concentración con la mayor producción de segmentos nodales fue; $100 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1} / 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, al desarrollar un promedio de 4.6 segmentos nodales por brote (Figura 3, inciso 2).

El análisis estadístico de la longitud de los brotes con respecto a los tratamientos mostró una diferencia significativa. En la figura 3 inciso 3, se observa que la concentración de $400 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1} / 10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, produce los brotes de menor longitud, en promedio 32.65mm.

Se observó una diferencia significativa entre los tratamientos en la inducción de tejido calloso, debido a que no hubo formación de callo en el tratamiento control.

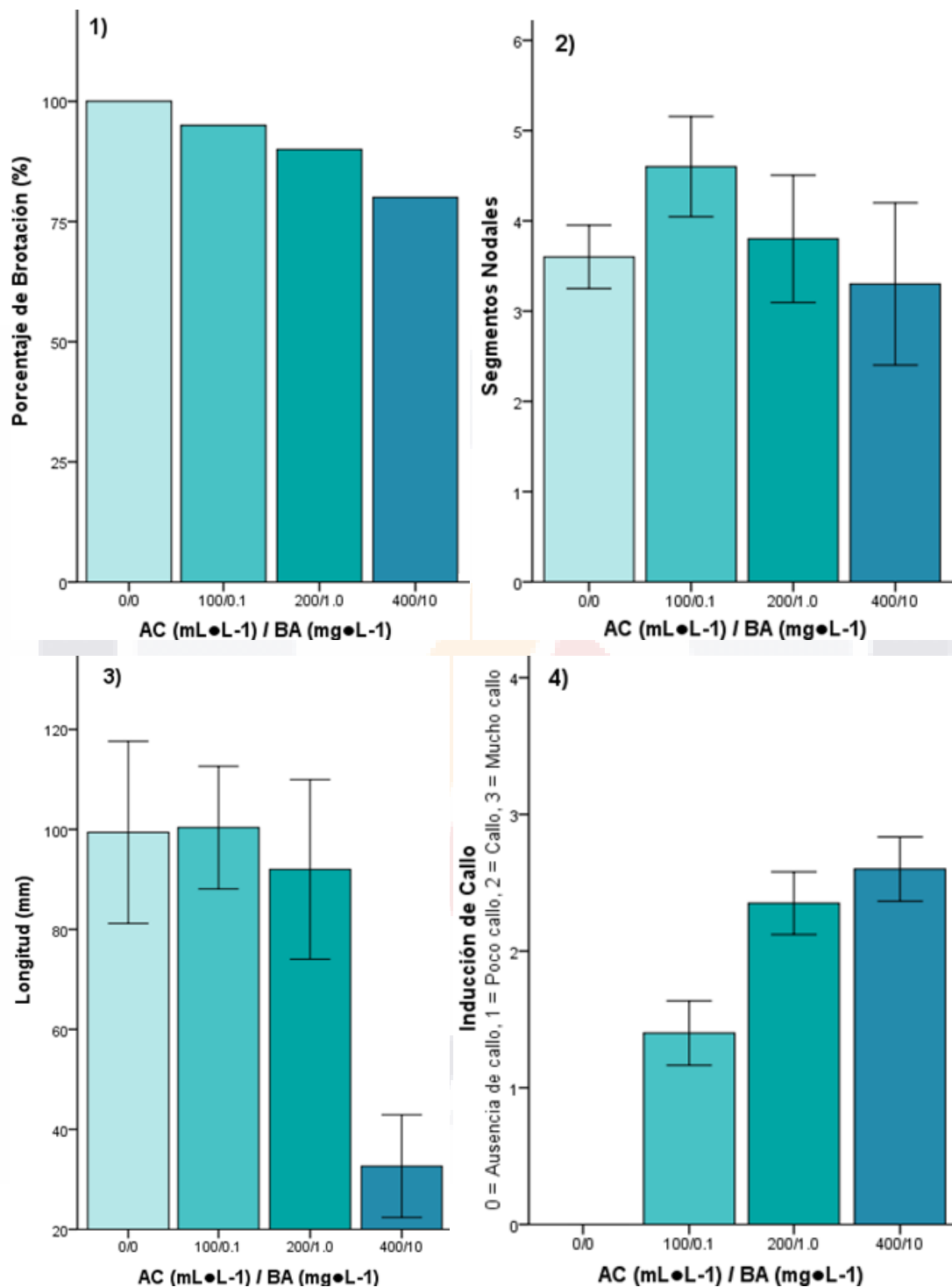


Figura3. Efecto del agua de coco (AC) y la Benciladenina (BA), sobre; 1) porcentaje de brotación, 2) segmentos nodales, 3) longitud e 4) inducción de callo; a partir de segmentos nodales de la variedad *heirloom* Black Prince (BP), cultivados sobre medio MS, después de 28 días de cultivo. Las líneas verticales sobre las barras representan el error estándar con un nivel de significancia $\alpha = 0.05$.



Figura 4. Efecto del AC / BA ($\text{mL}\cdot\text{L}^{-1}$ / $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), a partir de segmentos nodales de la variedad tipo *heirloom* Black Prince, cultivados sobre medio MS, después de 28 días de cultivo.



Figura 5. Efecto del AC / BA ($\text{mL}\cdot\text{L}^{-1}$ / $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), a partir de segmentos nodales de la variedad tipo *heirloom* Cream Sausage, cultivados sobre medio MS, después de 28 días de cultivo.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Para la variedad *heirloom* Cream Sausage; no se observó brotación múltiple, cultivada sobre MSadicionado con agua de coco y Benciladenina (Tabla 1). En todos los tratamientos se obtuvo sólo un brote por explante.

El porcentaje de brotación mostró una diferencia significativa ($P < 0.05$), ya que cuando se adicionó la concentración AC / BA ($200 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1} / 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), se observó una productividad de 53%; el menor de todos los tratamientos (Figura 6, inciso 1). Los tratamientos que obtuvieron el mayor porcentaje de brotación fueron; el tratamiento control y el tratamiento con la concentración de agua de coco $400 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1} / 10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de Benciladenina con un porcentaje de brotación del 100% (Figura 5).

El análisis estadístico del número de segmentos nodales por brote con respecto a los tratamientos sugirió una diferencia significativa ($P < 0.05$).

El análisis estadístico de la longitud de los brotes con respecto a los diferentes tratamientos produjo una diferencia significativa. En la figura 6 inciso 3, se observó que la concentración de AC / BA ($200 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1} / 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), produjo los brotes de menor longitud en promedio 11.53mm.

Se observó una diferencia significativa entre los tratamientos en la inducción de callo, debida a que no hubo formación de tejido calloso en el tratamiento control.

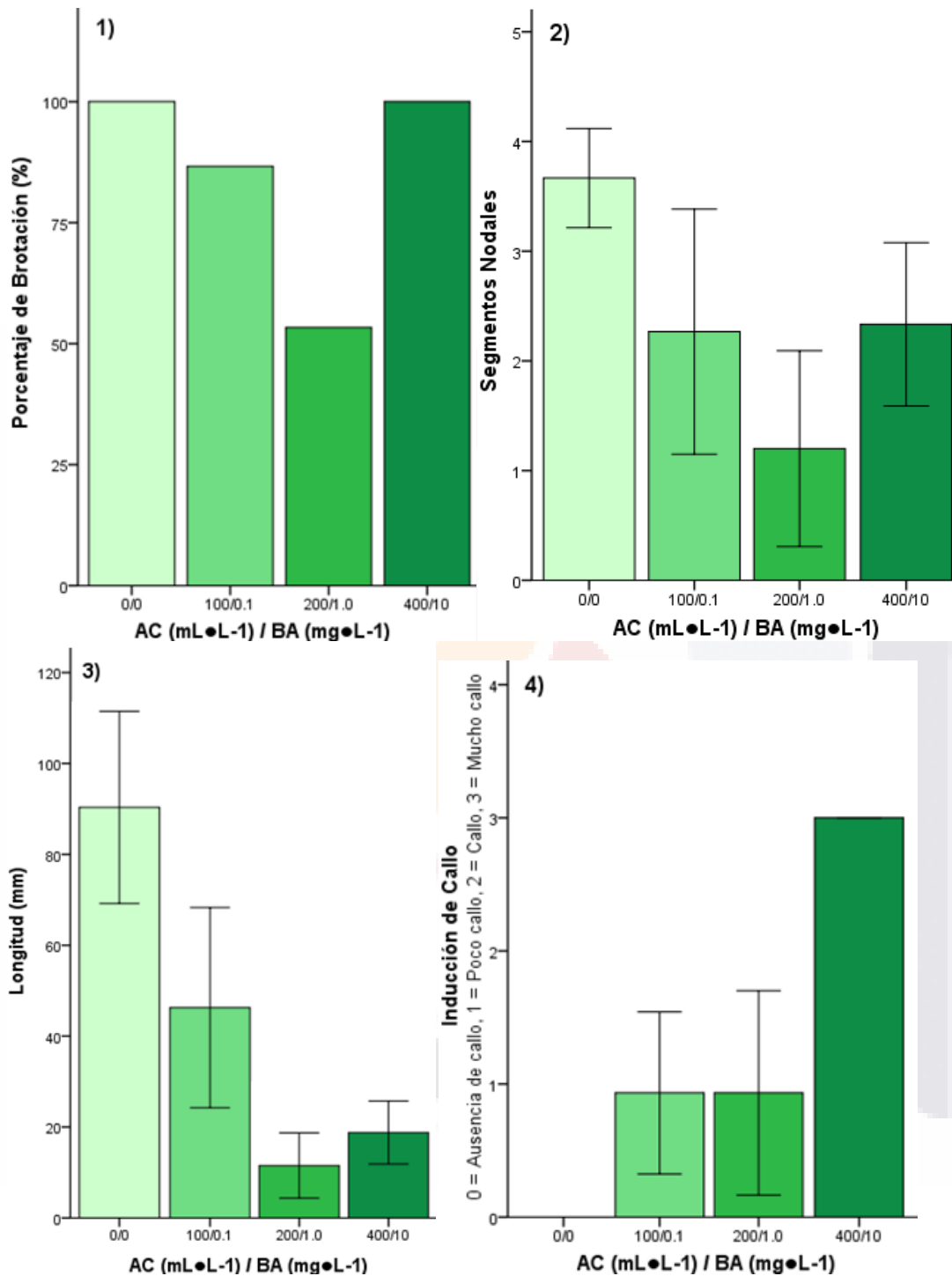


Figura 6. Efecto del agua de coco (AC) y la Benciladenina (BA), sobre; 1) porcentaje de brotación, 2) segmentos nodales, 3) longitud e 4) inducción de callo; a partir de segmentos nodales de la variedad *heirloom*Cream Sausage (CS), cultivados sobre medio MS, después de 28 días de cultivo. Las líneas verticales sobre las barras representan el error estándar con un nivel de significancia $\alpha = 0.05$.

Para la variedad *heirloom* Pruden's Purple; no se observó brotación múltiple, cuando se expuso a los diferentes tratamientos con agua de coco y Benciladenina (Tabla 1). En todos los tratamientos se obtuvo sólo un brote por explante.

El porcentaje de brotación no mostró una diferencia significativa, se obtuvo una productividad de al menos 60% en todos los tratamientos (Figura 7, inciso 1). El tratamiento control, obtuvo el mayor porcentaje de brotación con 87% (Figura 8).

El análisis estadístico del número de segmentos nodales por brote con respecto a los tratamientos no mostró una diferencia significativa ($P = 0.221$). El tratamiento con la mayor producción de brotes fue; $100 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1} / 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; al producir un promedio de 2.9 segmentos nodales por brote (Figura 7, inciso 2).

En el análisis estadístico de la longitud de los brotes con respecto a los diferentes tratamientos se observó una diferencia significativa ($P < 0.05$). En la figura 7 inciso 3, se observa que la concentración de $100 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1} / 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, produjo los brotes de mayor longitud en promedio 76.47 mm.

Se observó una diferencia significativa entre los tratamientos en la inducción de callo, debido a que no hubo formación de tejido calloso en el tratamiento control.

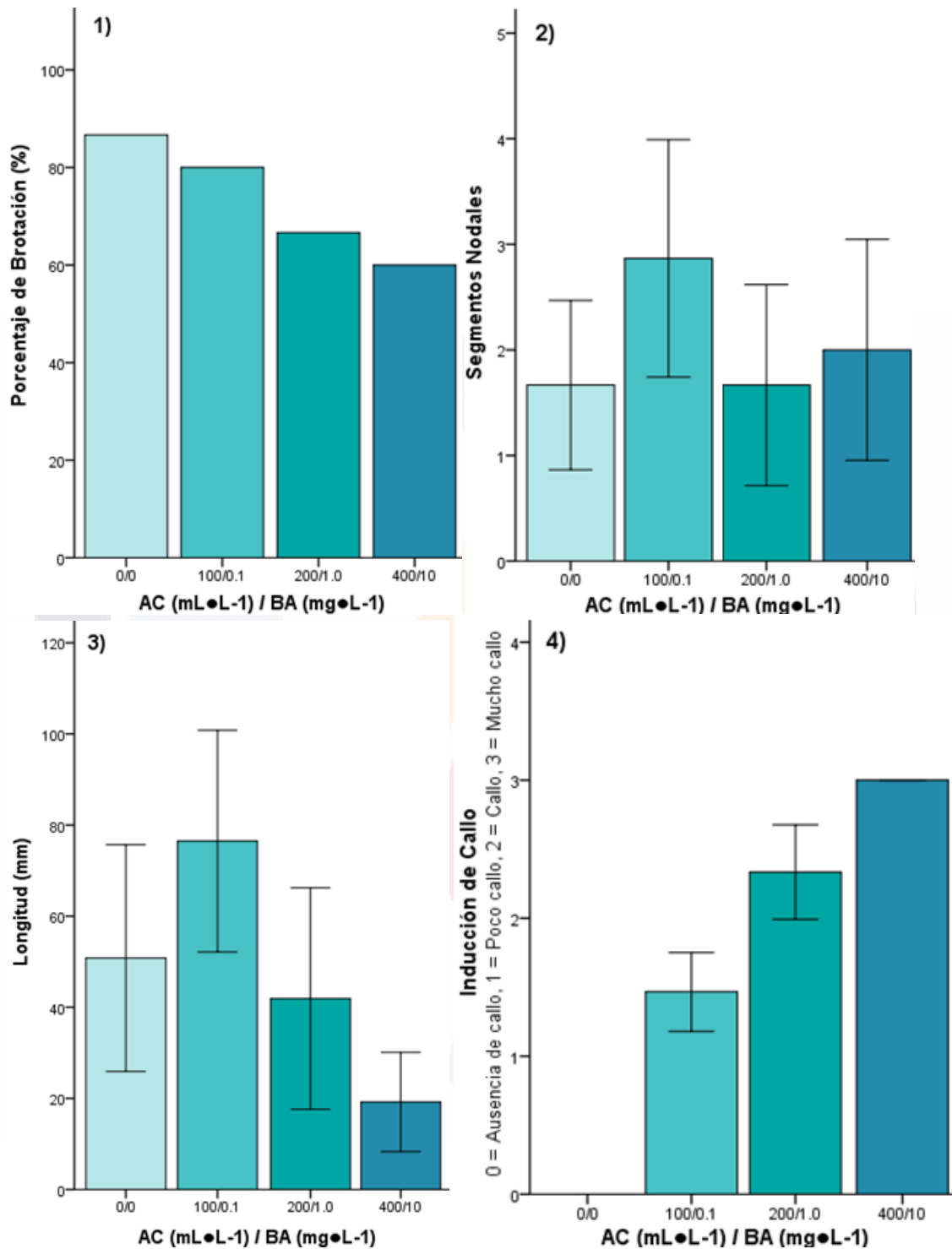


Figura 7. Efecto del agua de coco (AC) y la Benciladenina (BA), sobre; 1) porcentaje de brotación, 2) segmentos nodales, 3) longitud e 4) inducción de callo; a partir de segmentos nodales de la variedad *heirloom* Pruden's Purple (PP), cultivados sobre medio MS, después de 28 días de cultivo. Las líneas verticales sobre las barras representan el error estándar con un nivel de significancia $\alpha = 0.05$.



Figura 8. Efecto del AC / BA ($\text{mL}\cdot\text{L}^{-1}$ / $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), a partir de segmentos nodales de la variedad tipo *heirloom* Pruden's Purple, cultivados sobre medio MS, después de 28 días de cultivo.

En el segundo experimento con reguladores, la variedad comercial Aníbal; no produjo brotación múltiple, después de ser observada con los diferentes tratamientos de Benciladenina (BA), Cinetina (CIN), Metatopolina (*mT*), (Tabla 2). En todos los tratamientos se obtuvo sólo un brote por explante.

El porcentaje de brotación no mostró una diferencia significativa, se obtuvo una productividad de al menos 80% en todos los tratamientos (Figura 9, inciso 1). El tratamiento control, obtuvo el mayor porcentaje de brotación.

El análisis estadístico del número de segmentos nodales por brote con respecto a los tratamientos mostró una diferencia significativa ($P < 0.05$). El tratamiento con la menor formación de segmentos nodales fue; el de la concentración con 6.0 g de (BA:CIN:*mT*), al generar un promedio de 3.1 segmentos nodales por brote (Figura 9, inciso 2).

En el análisis estadístico de la longitud de los brotes con respecto a los diferentes tratamientos mostró una diferencia significativa. En la figura 9 inciso 3, se observó que la concentración con 6g de (BA:CIN:*mT*), produce los brotes de menor longitud en promedio 10.95mm.

Se observó una diferencia significativa entre los tratamientos en la inducción de callo, debido a que no hubo formación de tejido calloso en el tratamiento control, ni el tratamiento con 6.0 g de (BA:CIN:*mT*), se observó que a medida que se incrementó la concentración de los reguladores, se inhibió la inducción de callo .

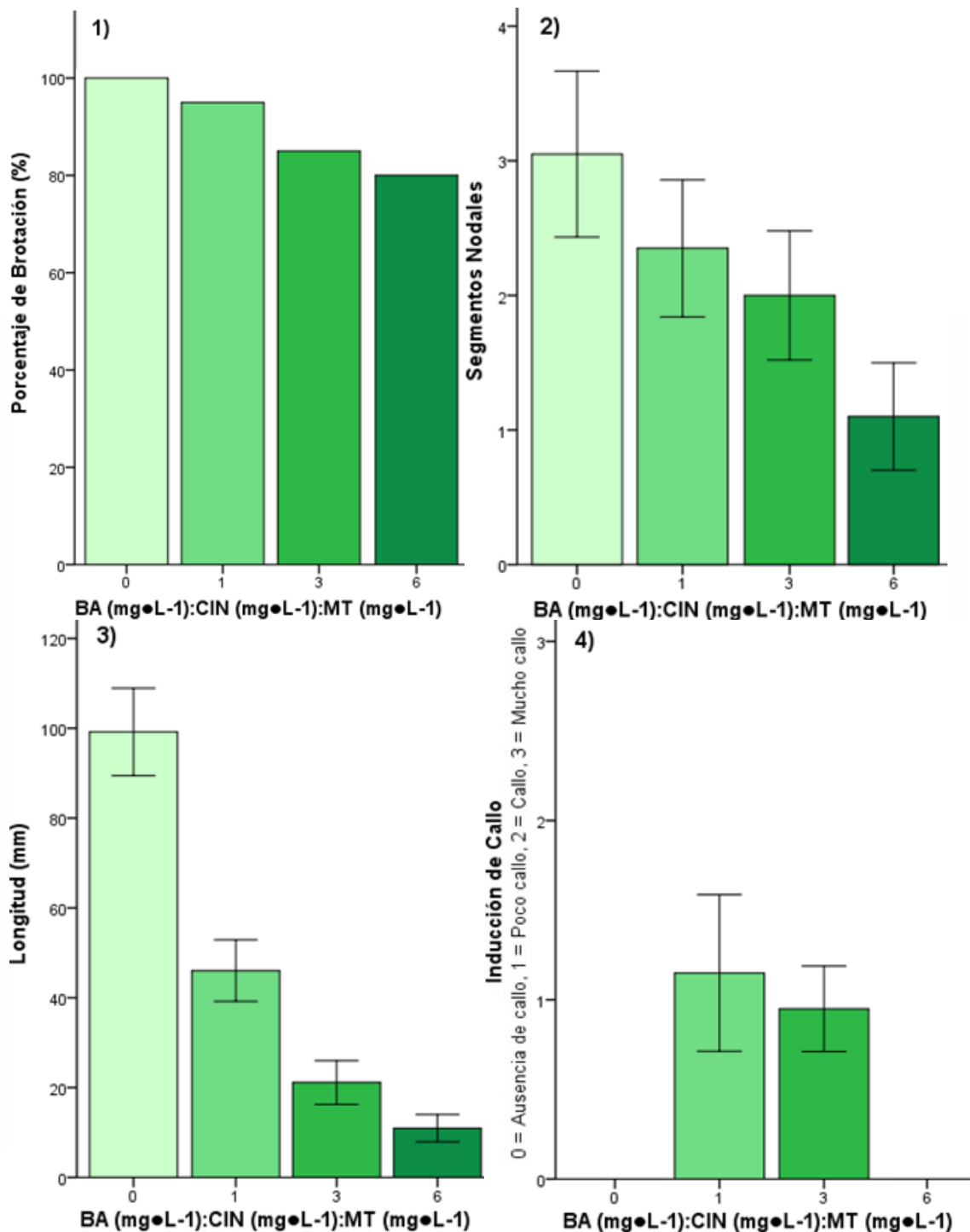


Figura 9. Efecto de la Benciladenina (BA),Cinetina (CIN) y Metatopolina (*mT*) sobre; 1) porcentaje de brotación, 2) segmentos nodales, 3) longitud e 4) inducción de callo; a partir de segmentos nodales de la variedad comercial Aníbal (AN), cultivados sobre medio MS, después de 28 días de cultivo. Las líneas verticales sobre las barras representan el error estándar con un nivel de significancia $\alpha = 0.05$.

Para la variedad Black Prince; no se produjo brotación múltiple, después de ser observada con los diferentes tratamientos de Benciladenina (BA), Cinetina (CIN), Metatopolina (*mT*), (Tabla 2). En todos los tratamientos se obtuvo sólo un brote por explante.

El porcentaje de brotación no mostró una diferencia significativa ($P=0.372$), se obtuvo una productividad de al menos 85% en todos los tratamientos (Figura 10, inciso 1). El tratamiento control, obtuvo el mayor porcentaje de brotación (Figura 11).

El análisis estadístico del número de segmentos nodales por brote con respecto a los tratamientos, no mostró diferencia significativa entre los tratamientos ($P=0.767$). La concentración con la mayor producción de segmentos nodales fue; la concentración con 6.0 g de (BA:CIN:*mT*), al producir un promedio de 4 segmentos nodales por brote (Figura 10, inciso 2).

El análisis estadístico de la longitud de los brotes con respecto a los diferentes tratamientos mostró una diferencia significativa ($P<0.05$). En la figura 10 inciso 3, se observa que a medida que se incrementa la concentración de (BA:CIN:*mT*), se producen brotes de menor longitud.

Se observó una diferencia significativa entre los tratamientos y la inducción de tejido calloso, debido a que no hubo formación de callo en el tratamiento control.

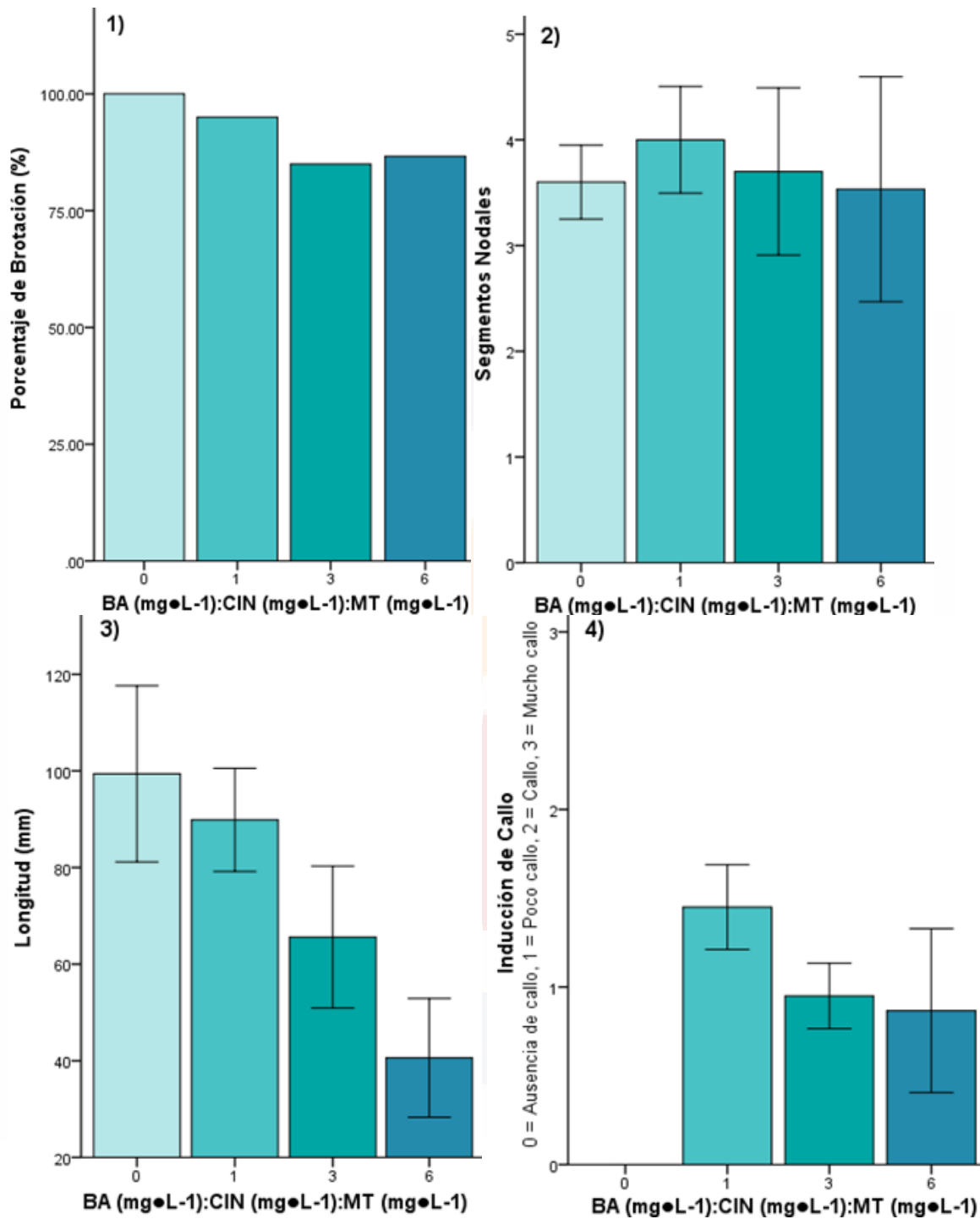


Figura 10. Efecto de la Benciladenina (BA), Cinetina (CIN) y Metatopolina (*mT*) sobre; 1) porcentaje de brotación, 2) segmentos nodales, 3) longitud e 4) inducción de callo; a partir de segmentos nodales de la variedad *heirloom* Black Prince (BP), cultivados sobre medio MS, después de 28 días de cultivo. Las líneas verticales sobre las barras representan el error estándar con un nivel de significancia $\alpha = 0.05$.



Figura 11.Efecto de los reguladores Benciladenina, Cinetina y Metatopolina ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), a partir de segmentos nodales de la variedad tipo *heirloom* Black Prince, cultivados sobre medio MS, después de 28 días de cultivo.



Figura 12.Efecto de los reguladores Benciladenina, Cinetina y Metatopolina ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), a partir de segmentos nodales de la variedad tipo *heirloom* Cream Sausage, cultivados sobre medio MS, después de 28 días de cultivo.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Para la variedad Cream Sausage; no se observó brotación múltiple, después de ser observada con los diferentes tratamientos de Benciladenina (BA), Cinetina (CIN), Metatopolina (*mT*), (Tabla 2). En todos los tratamientos se registró un brote por explante.

El porcentaje de brotación mostró que no hay una diferencia significativa ($P>0.05$), el menor de todos los tratamientos (Figura 13, inciso 1). Los tratamientos que obtuvieron el mayor porcentaje de brotación fueron; el tratamiento control y el tratamiento con 6.0 g de (BA:CIN:*mT*) con un porcentaje de brotación del 90% (Figura 12).

En el análisis estadístico del número de segmentos nodales por brote con respecto a los tratamientos se observó que no hay una diferencia significativa ($P=0.928$) entre los segmentos nodales y los tratamientos utilizados.

El análisis estadístico de la longitud de los brotes con respecto a los diferentes tratamientos mostró una diferencia significativa ($P<0.05$). En la figura 13 inciso 3, se observa que el tratamiento de control, produjo los brotes de mayor longitud en promedio 94.30mm.

Se observó una diferencia significativa entre los tratamientos en la inducción de callo, debido a que no hubo formación de tejido calloso en el tratamiento control. Así mismo se aprecia que a medida que la concentración de reguladores aumenta, la longitud de los brotes y la inducción de cuerpo calloso, decrecen.

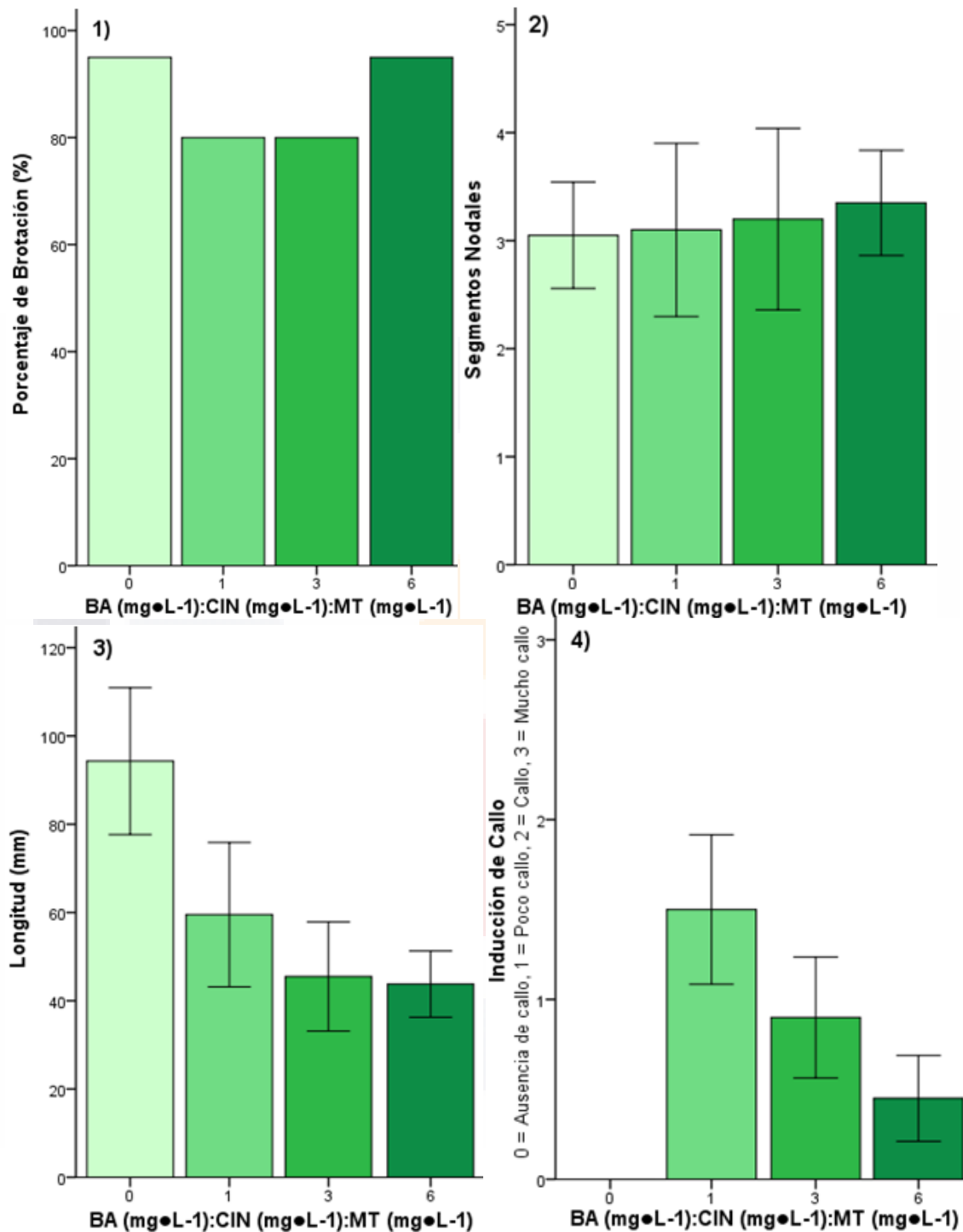


Figura 13. Efecto de la Benciladenina (BA), Cinetina (CIN) y Metatopolina (*mT*) sobre; 1) porcentaje de brotación, 2) segmentos nodales, 3) longitud e 4) inducción de callo; a partir de segmentos nodales de la variedad *heirloom* Cream Sausage (CS), cultivados sobre medio MS, después de 28 días de cultivo. Las líneas verticales sobre las barras representan el error estándar con un nivel de significancia $\alpha = 0.05$.

Para la variedad Pruden's Purple; no se observó brotación múltiple, después de ser observada con los diferentes tratamientos de Benciladenina (BA), Cinetina (CIN), Metatopolina (*mT*), (Tabla 2). En todos los tratamientos se obtuvo sólo un brote por explante.

En el análisis estadístico referente al porcentaje de brotación (Figura 14, inciso 1), se observó una diferencia significativa ($P < 0.05$). El tratamiento control, obtuvo el mayor porcentaje de brotación con 86% (Figura 15).

El análisis estadístico del número de segmentos nodales por brote con respecto a los tratamientos mostró que, existe una diferencia significativa ($P < 0.05$). El tratamiento con la mayor producción de brotes fue; el tratamiento de control, al producir un promedio de 1.6 segmentos nodales por brote (Figura 14, inciso 2).

En el análisis estadístico de la longitud de los brotes con respecto a los diferentes tratamientos se observó una diferencia significativa ($P < 0.05$). En la figura 14 inciso 3, se observó que la concentración de 3.0 g de (BA:CIN:*mT*), produjo los brotes de menor longitud en promedio 8.0mm.

Se observó que existe una diferencia significativa entre los tratamientos en la inducción de callo, debido a; que no hubo formación de tejido calloso en el tratamiento control, ni en el tratamiento con la concentración de 6.0 g de (BA:CIN:*mT*).

El tratamiento que más inducción de tejido calloso produjo para ésta variedad (Figura 14, inciso 4), es el tratamiento con 1.0 g de (BA:CIN:*mT*).

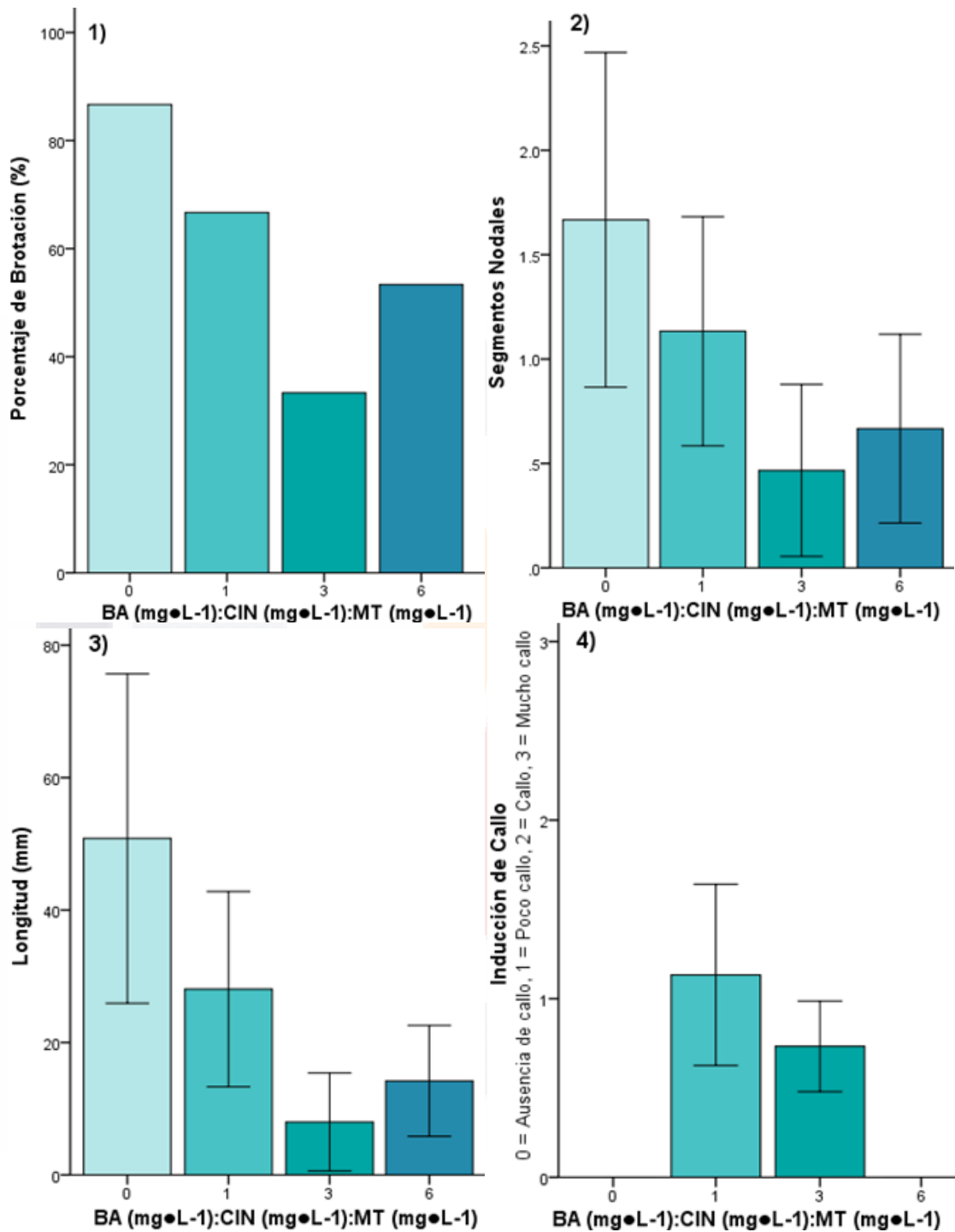


Figura 14. Efecto de la Benciladenina (BA), Cinetina (CIN) y Metatopolina (*mT*) sobre; 1) porcentaje de brotación, 2) segmentos nodales, 3) longitud e 4) inducción de callo; a partir de segmentos nodales de la variedad *heirloom* Pruden’s Purple (PP), cultivados sobre medio MS, después de 28 días de cultivo. Las líneas verticales sobre las barras representan el error estándar con un nivel de significancia $\alpha = 0.05$.



Figura 15. Efecto de los reguladores Benciladenina, Cinetina y Metatopolina ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), a partir de segmentos nodales de la variedad tipo *heirloom Pruden's Purple*, cultivados sobre medio MS, después de 28 días de cultivo.

El análisis estadístico de los experimentos; con Agua de Coco / Benciladenina, respecto a la variedad de tomate empleada, mostró diferencias significativas en cuanto a la longitud, el número de segmentos nodales y la inducción de callo, a excepción del número de segmentos nodales para la variedad *heirloom Pruden's Purple*, el cual no mostró diferencia significativa, además de tener un buen porcentaje de brotación, y un buen promedio de longitud, con el tratamiento $100 \text{ mL}\cdot\text{L}^{-1} \text{ AC} / 0.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ BA}$.

En cuanto a la longitud de los brotes, el tratamiento control mostró la mayor longitud de los brotes para todas las variedades; excepto con el tomate tipo *Pruden's Purple*, en el primer experimento.

Resulta importante considerar que, la longitud de los brotes generados por los tratamientos de ambos experimentos resultó afectada, puesto que, al incrementarse la concentración de las citocininas, la longitud de los brotes decreció.

En el caso de las variedades *sheirloom*, Black Prince, Cream Sausage y Pruden's Purple, mostraron un efecto positivo en cuanto a producción de segmentos nodales; en éstas variedades el tratamiento con $100 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1} \text{ AC} / 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ BA}$, produjo mayor número de segmentos en contraste con el tratamiento control.

En el caso del número de segmentos nodales, para la variedad Black Prince, el tratamiento con 1 g de (BA:CIN:mT) del segundo experimento, fue el que mostró un mayor número de segmentos nodales.

Etapa 3. Enraizamiento.

Las plántulas enraizadas, en las que se utilizó una tapa de intercambio de gases, mostraron un mayor número de puntas radicales (Tabla 3); también se observó que estas raíces tuvieron una menor longitud, en comparación con las producidas en los recipientes que no contaban con la tapa de intercambio gaseoso (Figura 16).

Se apreció que, en los recipientes con tapas de intercambio, los cultivos tenían una menor humedad relativa, las hojas de las plántulas no presentaban epinastía y se originaron tricomas en las hojas, a diferencia de los explantes utilizados en los recipientes sin tapa de intercambio gaseoso.

Formación de Puntas Radicales

Variedad	Puntas Radicales con tapa de intercambio de gases	Puntas Radicales sin tapa de intercambio de gases
AN	241	234
BP	224	190
CS	111	90
PP	135	97

Tabla 4. Resultados del efecto de los recipientes de intercambio gaseoso y el medio de enraizamiento sobre la formación de puntas radicales, aplicados a las variedades *heirloom*; Black Prince (BP), Cream Sausage (CS) y Pruden’s Purple (PP), así como a la variedad comercial Aníbal (AN).

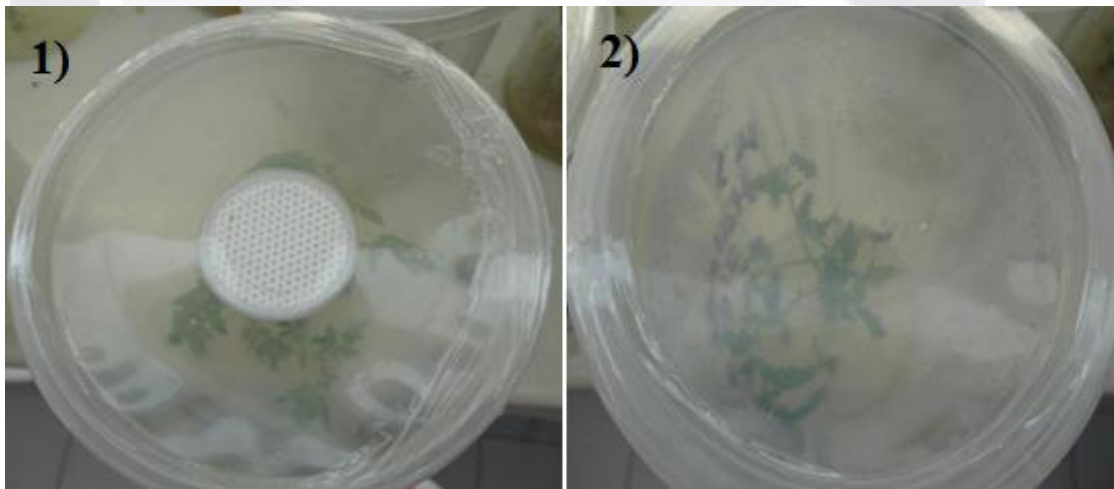


Figura 16. Recipientes con; 1) tapa de intercambio gaseoso y 2) sin tapa de intercambio gaseoso, utilizados en el enraizamiento de las variedades *heirloom*; Black Prince (BP), Cream Sausage (CS) y Pruden’s Purple (PP), así como a la variedad comercial Aníbal (AN).

Etapa 3. Siembra de semillas para el invernadero.

El porcentaje de germinación obtenido después de 14 días, a partir de plántulas germinadas por semilla para su uso en el invernadero fue para la variedad comercial Aníbal 79.3%, para las variedades *heirloom*; Black Prince 34.5%, Cream Sausage 55.2% y Pruden’s Purple 69%. Resultó evidente que la variedad comercial produce un mejor porcentaje de germinación en comparación con las variedades *heirloom*.

Etapa 4. Aclimatación de plántulas enraizadas *in vitro*.

No se observó ninguna diferencia entre plántulas provenientes de un recipiente con tapa de intercambio gaseoso o de las obtenidas sin tapa de intercambio (Tabla 4), ambas obtuvieron un porcentaje de 100% de supervivencia sobre medio MS (50% de sales macronutrientes) y adicionado con 20 g•L⁻¹ de sacarosa.

Aclimatación de Plántulas

Variedad	Plántulas con tapa de intercambio gaseoso	Plántulas sin tapa de intercambio gaseoso	Supervivencia (%)
AN	20	20	100
BP	20	20	100
CS	20	20	100
PP	20	20	100

Tabla 5. Resultados de la aclimatación de plántulas previamente enraizadas; con y sin tapa de intercambio gaseoso, aplicada a las variedades *heirloom*; Black Prince (BP), Cream Sausage (CS) y Pruden’s Purple (PP), así como a la variedad comercial Aníbal (AN).

Etapa 5 y 6. Cultivo en invernadero (Crecimiento vegetativo y reproductivo).

La variedad comercial Aníbal produjo el mayor aumento de longitud de las plantas en el invernadero (Figura17, inciso 1), tanto las provenientes de semillas como las de *in vitro*, mientras que la variedad Cream Sausage, fue la que desarrollo la menor longitud en plántulas provenientes de ambos orígenes.

Las plántulas de la variedad Black Prince tanto de semilla como las de *in vitro*, fueron las que mostraron un mayor aumento en el diámetro del tallo (Figura 17, inciso 2). Las plántulas de la variedad comercial Aníbal provenientes de cultivo *in vitro*, fueron las que tuvieron el menor aumento de diámetro del tallo.

El análisis estadístico, mostró que no existen diferencias significativas en casi todas las variedades referente al aumento de longitud y el diámetro del tallo, entre plántulas provenientes de semilla y de *in vitro* de la misma variedad (P=0.728 y P=0.931 respectivamente), excepto con la variedad tipo Cream Sausage (P=0.022).

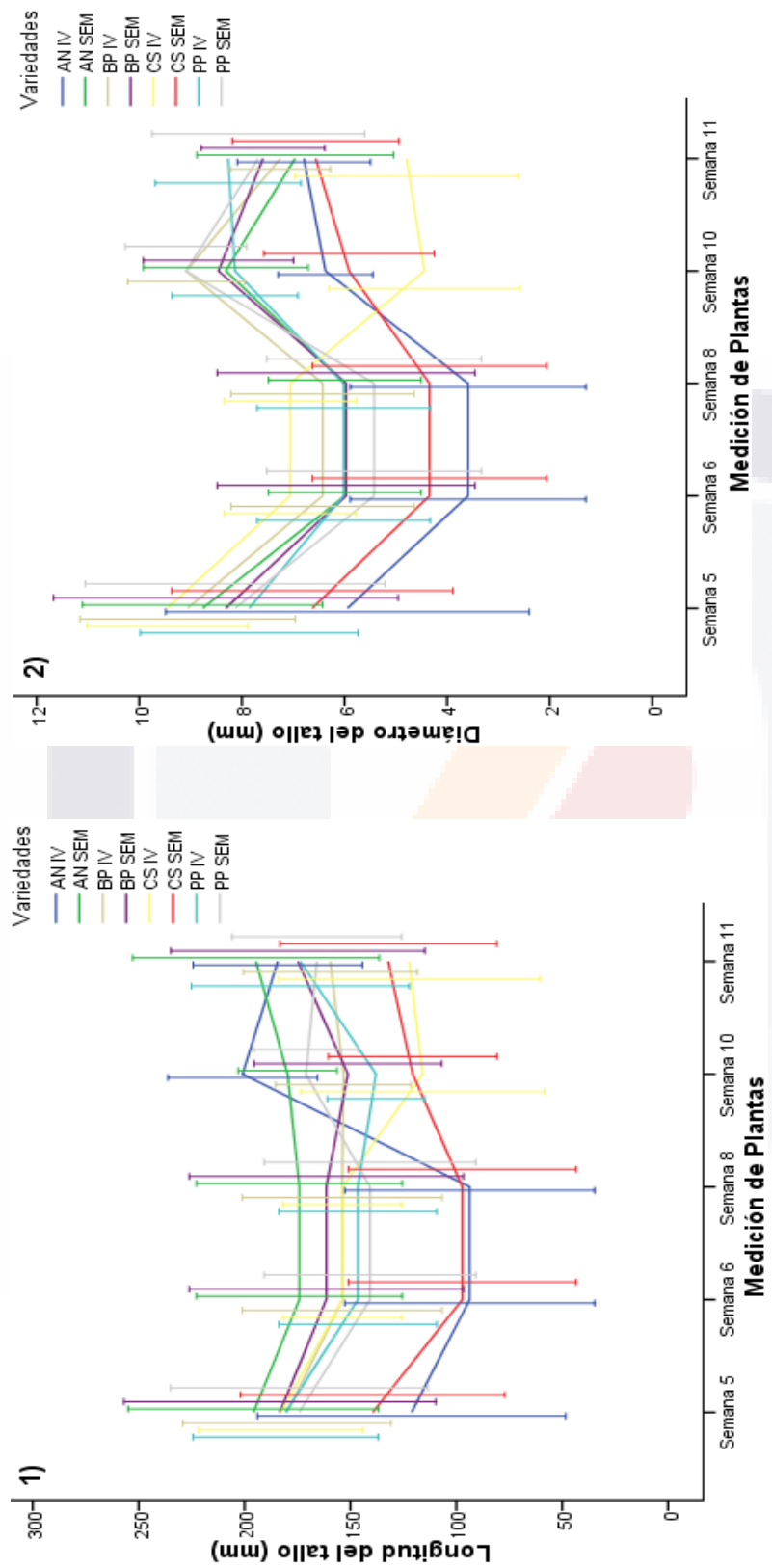


Figura 17. Medición de; 1) Longitud (mm) y 2) Diámetro (mm) del tallo, aplicados a las variedades heirloom; Black Prince (BP), Cream Sausage (CS) y Pruden’s Purple (PP), así como a la variedad comercial Anibal (AN). A partir de la semana 5 del trasplante al invernadero hasta la semana 11. Las líneas verticales sobre las barras representan el error estándar.

Etapa 7. Cosecha y medición de parámetros de calidad.

En las tablas 5 y 6, se presentaron los resultados del análisis dimensional aplicado a los frutos obtenidos en la primer y segunda cosecha, en las tablas 7 y 8, se presentaron los resultados de los análisis químicos aplicados a los frutos obtenidos en la primer y segunda cosecha.

Los análisis estadísticos, no mostraron diferencias significativas entre las cantidades de los frutos provenientes de las plantas obtenidas por germinación por semilla y las plántulas propagadas *in vitro*.

Se realizaron dos determinaciones de análisis de color, para los frutos de la variedad Black Prince, debido a que mostró dos tonalidades de color en los frutos obtenidos (Tabla 6).

Análisis dimensionales de frutos maduros de tomate.

Primer Cosecha								
Variedad	Origen	Frutos por racimo	Peso (g)	Longitud ecuatorial (cm)	Longitud transversal (cm)	Altura (cm)	Anchura (cm)	Volumen desplazado (mL)
AN	<i>in vitro</i>	7.00	91.55	15.34	9.83	70.87	47.06	96.53
AN	semilla	7.58	101.55	16.23	14.00	78.07	49.85	114.00
BP	<i>in vitro</i>	4.57	133.18	19.21	10.54	64.35	59.71	137.40
BP	semilla	6.28	119.59	19.27	10.24	60.42	59.70	115.73
CS	<i>in vitro</i>	7.40	69.95	13.11	9.97	78.55	39.73	71.53
CS	semilla	6.75	70.84	12.80	9.98	77.06	40.12	75.00
PP	semilla	4.50	100.87	24.83	11.16	68.42	63.83	251.66

Tabla 6. Resultados de las mediciones de frutos por racimo, peso, longitud ecuatorial, longitud transversal, altura, anchura y volumen desplazado, realizados a la primer cosecha de las variedades *heirloom*; BP, CS y PP, así como a la variedad comercial AN, cultivadas en un invernadero semi-hidropónico con el objetivo de evaluar la calidad del tomate.

Análisis dimensionales de frutos maduros de tomate.

Variedad	Origen	Segunda Cosecha								
		Frutos por racimo	Peso (g)	Longitud ecuatorial (cm)	Longitud transversal (cm)	Altura (cm)	Anchura (cm)	Volumen desplazado (mL)	Firmeza (kgf)	Colorimetría (L*a*b*)
AN	<i>in vitro</i>	5.10	84.32	13.32	8.44	62.50	45.50	90.27	1.80	47.00 18.05 16.92
AN	semilla	7.72	85.20	15.49	9.91	69.73	48.54	96.66	2.24	48.03 18.49 17.57
BP	<i>in vitro</i>	4.50	121.43	19.02	10.12	59.61	59.70	124.21	1.08	40.67 3.26 12.52 43.81 8.09 15.42
BP	semilla	5.71	133.16	19.90	10.36	60.28	59.71	135.00	1.23	39.78 3.38 13.84 42.04 9.05 15.42
CS	<i>in vitro</i>	6.00	75.65	12.59	8.81	70.13	40.19	76.55	1.25	69.98 -4.94 26.56
CS	semilla	6.55	83.45	14.43	10.03	80.92	44.59	81.25	1.31	58.94 -3.93 20.35
PP	semilla	4.50	120.38	24.83	11.16	68.42	63.83	251.66	1.50	41.38 15.18 12.71

Tabla 7. Resultados de las mediciones de frutos por racimo, peso, longitud ecuatorial, longitud transversal, altura, anchura, volumen desplazado, firmeza, colorimetría, realizados a la segunda cosecha de las variedades *heirloom*; BP, CS y PP, así como la variedad comercial AN, cultivadas en un invernadero semi-hidropónico con el objetivo de evaluar la calidad del tomate.

Análisis químicos de frutos maduros de tomate.

Primer Cosecha							
Variedad	Origen	mg eq. Ac. Gálico/100g peso húmedo	µmoles eq. Trolox/100g peso húmedo	mg eq. Cianidina 3-glucósido/1000g peso húmedo	mLNaOH 0.1M/100g peso húmedo	pH	°Brix
AN	in vitro	19.44	104.34	-	69.65	4.30	4.6
AN	semilla	22.26	118.07	-	74.95	4.19	4.1
BP	in vitro	23.75	103.87	8.13	64.36	4.33	3.7
BP	semilla	19.94	103.17	6.73	63.06	4.44	4.4
CS	in vitro	29.42	84.96	-	75.25	4.24	4.0
CS	semilla	17.86	91.42	-	70.72	4.21	4.2
PP	semilla	27.98	33.40	-	78.03	4.19	4.8

Tabla 8. Resultados de las pruebas de; fenoles solubles, actividad antioxidante, antocianinas, acidez titulable, pH y sólidos solubles, realizadas a la primer cosecha de las variedades *heirloom*; BP, CS, PP, así como a la variedad comercial AN, cultivadas en un invernadero semi-hidropónico, con el objetivo de evaluar la calidad del tomate.

Análisis químicos de frutos maduros de tomate.

Segunda Cosecha							
Variedad	Origen	mg eq. Ac. Gálico/100g peso húmedo	µmoles eq. Trolox/100g peso húmedo	mg eq. Cianidina 3-glucósido/1000g peso húmedo	mLNaOH 0.1M/100g peso húmedo	pH	°Brix
AN	in vitro	20.24	107.06	-	72.96	4.31	4.5
AN	semilla	22.54	114.39	-	69.64	4.16	5.2
BP	in vitro	22.40	101.69	7.31	60.94	4.23	4.5
BP	semilla	20.59	102.76	6.03	59.36	4.28	4.2
CS	in vitro	21.81	86.32	-	79.29	4.24	5.4
CS	semilla	25.90	89.86	-	68.50	4.15	4.8
PP	semilla	23.26	29.76	-	74.85	4.22	4.8

Tabla 9. Resultados de las pruebas de; fenoles solubles, actividad antioxidante, antocianinas, acidez titulable, pH y sólidos solubles, realizadas a la segunda cosecha de las variedades *heirloom*; BP, CS, PP, así como a la variedad comercial AN, cultivadas en un invernadero semi-hidropónico, con el objetivo de evaluar la calidad del tomate.

En las figura 18 y 22 se muestra la maduración y caracterización de los frutos para la variedad comercial Aníbal provenientes de cultivo *in vitro* y semilla respectivamente.

Variedad Black Prince.

En los análisis estadísticos para la cantidad de frutos producidos y los pesos de los frutos no mostraron diferencias, cuando provenían de semilla o de cultivo *in vitro*, ($P=0.68$) y ($P=0.10$) respectivamente.

Para los realizados referentes a; largo, ancho, longitud transversal, longitud ecuatorial, volumen desplazado y dureza, en los frutos provenientes de semilla y los de cultivo *in vitro*, se mostró que, no hay diferencias significativas; ($P=0.31$), ($P=0.25$), ($P=0.21$), ($P=0.14$), ($P=0.06$) y ($P=0.63$), respectivamente.

En el caso de los análisis correspondientes con; acidez titulable, fenoles solubles, actividad antioxidante y antocianinas, se mostró que, produjo una diferencia significativa para la prueba de acidez titulable respecto a, los frutos de las plantas provenientes de semilla y las plántulas provenientes de cultivo *in vitro* ($P<0.05$), sin embargo para las pruebas de fenoles solubles, actividad antioxidante y antocianinas, no se produjo una diferencia significativa ($P=0.06$), ($P=0.29$), ($P=0.37$), respectivamente.

Cuando se comparó contra la variedad comercial Aníbal no presentó diferencia significativa entre ninguna de las pruebas realizadas ($P>0.05$).

En las figuras 19 y 23 se muestra la maduración y caracterización de los frutos para la variedad tipo Black Prince provenientes de cultivo *in vitro* y semilla respectivamente.

Variedad Cream Sausage.

En los análisis estadísticos para la cantidad de frutos producidos y peso de los mismos, no mostraron diferencias significativas entre la cantidad de frutos cuando provenían de semilla y de cultivo *in vitro* ($P=0.68$), sin embargo se produjo una diferencia significativa entre el peso de los frutos ($P=0.01$) respectivamente.

Para los realizados referentes a; largo, ancho, longitud transversal, longitud ecuatorial, volumen desplazado y dureza, en los frutos provenientes de semilla y los de cultivo *in vitro*, se mostró que, no produjo diferencias significativas; ($P=0.13$), ($P=0.80$), ($P=0.79$), ($P=0.97$), ($P=0.61$) y ($P=0.35$), respectivamente.

En el caso de los análisis correspondientes con; acidez titulable, fenoles solubles y actividad antioxidante, se mostró que, produjo una diferencia significativa para la prueba de acidez titulable y fenoles solubles respecto a, los frutos de las plantas provenientes de semilla y las plántulas provenientes de cultivo *in vitro* ($P<0.05$) y ($P=0.03$), sin embargo para las pruebas de actividad antioxidante, no se observó una diferencia significativa, ($P=0.17$).

Cuando se comparó contra la variedad comercial Aníbal no presentó diferencia significativa entre ninguna de las pruebas realizadas ($P=0.708$).

En las figuras 20 y 24 se muestra la maduración y caracterización de los frutos para la variedad tipo Cream Sausage provenientes de cultivo *in vitro* y semilla respectivamente.

Variedad Pruden's Purple.

En los análisis estadísticos para la cantidad de frutos producidos y peso de los mismos, se mostró que, produjo diferencias significativas entre la cantidad de frutos y el peso, de las plantas provenientes de semilla y las plántulas provenientes de cultivo *in vitro* ($P=0.02$) ($P=0.01$) respectivamente.

Para los realizados referentes a; largo, ancho, longitud transversal, longitud ecuatorial, volumen desplazado y dureza, en los frutos provenientes de semilla y los de cultivo *in vitro*. Se mostró que, no produjo diferencias significativas en ninguna de; ($P=0.07$), ($P=0.17$) y ($P=0.61$) respectivamente, sin embargo se mostró una diferencia significativa entre; ancho, longitud ecuatorial y volumen desplazado, ($P=0.01$), ($P=0.04$) y ($P=0.03$), respectivamente.

En el caso de los análisis correspondientes con; acidez titulable, fenoles solubles y actividad antioxidante, se mostró que, produjo una diferencia significativa para las pruebas de acidez titulable y fenoles solubles respecto a, los frutos de las plantas provenientes de semilla y las plántulas provenientes de cultivo *in vitro* ($P<0.05$), sin embargo para las pruebas de actividad antioxidante, no se produjo una diferencia significativa, ($P=0.19$).

En la figura 20 se muestra la maduración y caracterización de los frutos para la variedad tipo Pruden's Purple provenientes de semillas.



Figura 18. Maduración y caracterización de los frutos de la primer cosecha de la variedad comercial Aníbal, provenientes de plántulas cultivadas *in vitro* a partir de segmentos nodales y trasplantadas a un invernadero semi-hidropónico.

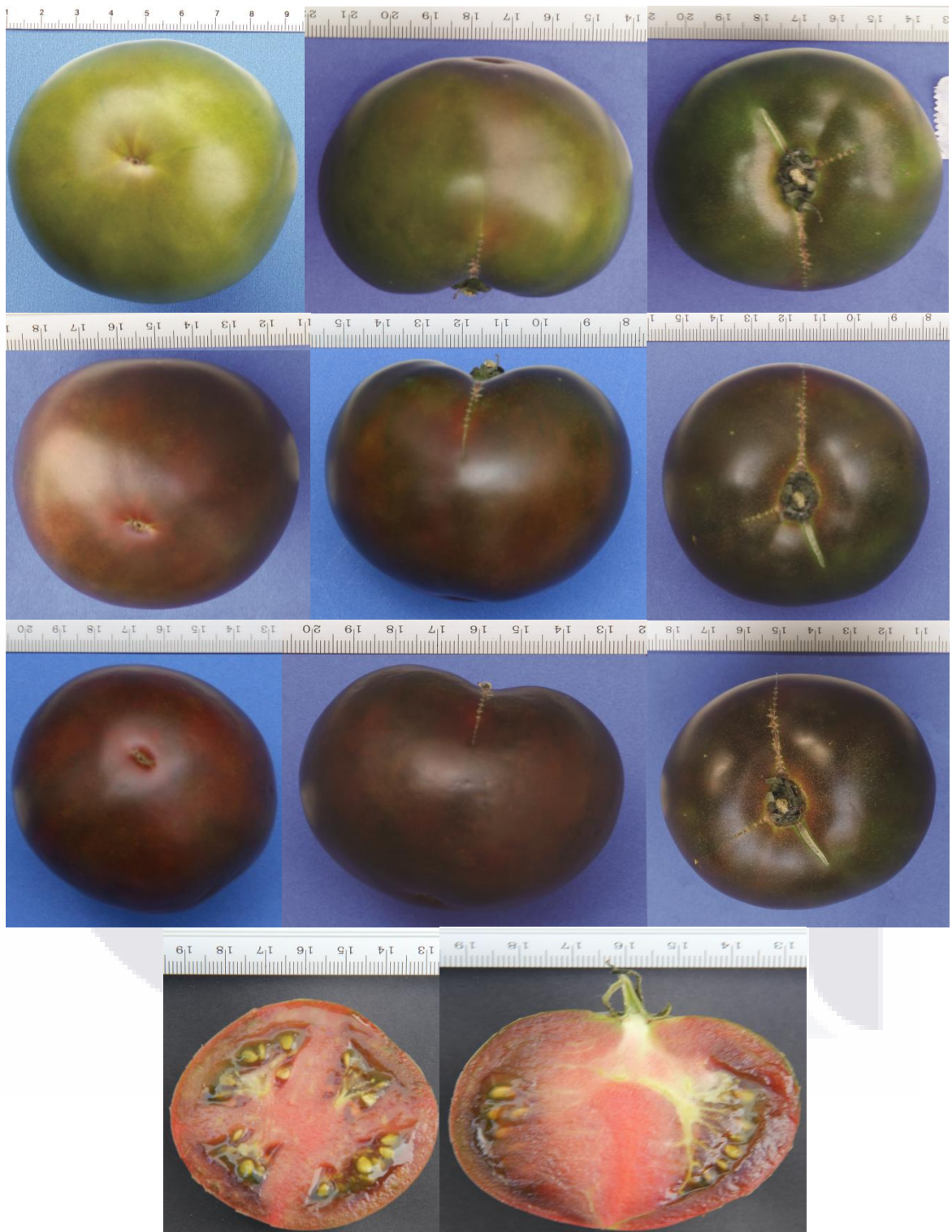


Figura 19. Maduración y caracterización de los frutos de la primer cosecha de la variedad tipo *heirloom* Black Prince, provenientes de plántulas cultivadas *in vitro* a partir de segmentos nodales y trasplantadas a un invernadero semi-hidropónico.

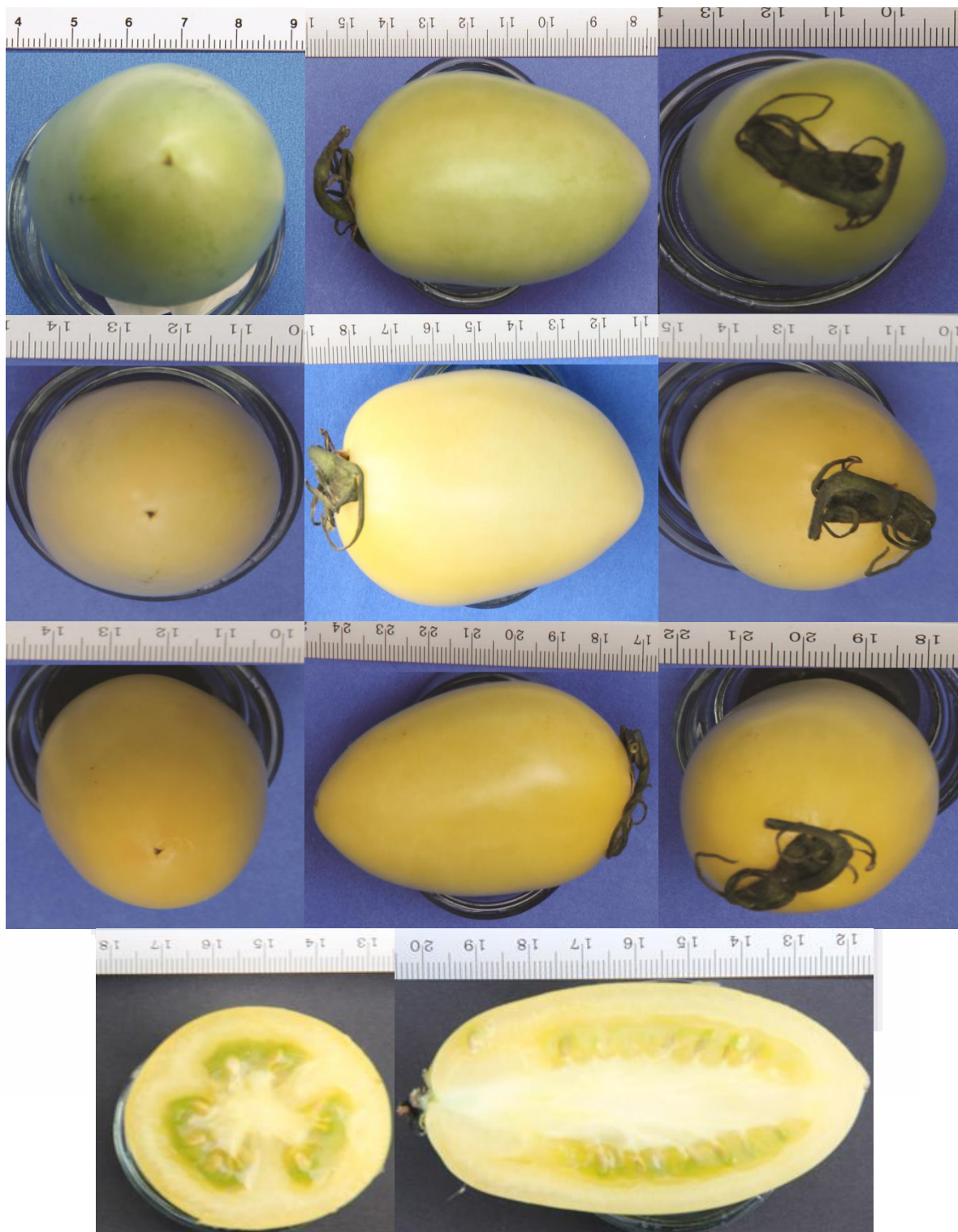


Figura 20. Maduración y caracterización de los frutos de la primer cosecha de la variedad tipo *heirloom* Cream Sausage, provenientes de plántulas cultivadas *in vitro* a partir de segmentos nodales y trasplantadas a un invernadero semi-hidropónico.



Figura 21. Maduración y caracterización de los frutos de la primer cosecha de la variedad tipo *heirloom* Pruden's Purple, provenientes de plántulas cultivadas a partir de semillas y trasplantadas a un invernadero semi-hidropónico.



Figura 22. Maduración y caracterización de los frutos de la primer cosecha de la variedad comercial Aníbal, provenientes de plántulas cultivadas a partir de semillas y trasplantadas a un invernadero semi-hidropónico.



Figura 23. Maduración y caracterización de los frutos de la primera cosecha de la variedad tipo *heirloom* Black Prince, provenientes de plántulas cultivadas a partir de semillas y trasplantadas a un invernadero semi-hidropónico.



Figura 24. Maduración y caracterización de los frutos de la primer cosecha de la variedad tipo *heirloom* Cream Sausage, provenientes de plántulas cultivadas a partir de semillas y trasplantadas a un invernadero semi-hidropónico.

VI. Discusiones

La búsqueda de un protocolo efectivo para la micropropagación de tomate *in vitro*, ha llevado a que se realicen múltiples experimentos, en los que se han utilizado algunas partes de la planta como son el hipocótilo, hojas y cotiledones con el objetivo de inducir la regeneración de la planta; sin embargo pocos son los estudios realizados con el fin de inducir la brotación a partir de yemas axilares.

El desarrollo de protocolos efectivos y eficientes en cuanto al costo para la propagación masiva de plántulas de tomate de alta calidad vía cultivo de tejidos puede ayudar a disminuir el costo por plántula. (Afroz et al. 2010).

El cultivo de tejido vegetales se basa en tres principios, de cuya comprensión y manipulación depende el éxito o fracaso de cualquier trabajo en este campo. Los principios básicos son; elección del explante, elección del medio y condiciones de cultivo y condiciones asépticas (Pérez-Molpheet *al.*, 1999).

Afroz *et al.* (2010) consideraron que los principales factores que influyen la propagación comercial de plantas *in vitro* son: el genotipo, el medio ambiente y la composición química del medio de cultivo.

Desde las primeras investigaciones, la zeatina ha sido aceptada como la única citocinina capaz de inducir crecimiento satisfactorio en explantes de tomate; sin embargo, debido a su alto costo, lo cual limita el desarrollo de protocolos de uso comercial; hay una opinión generalizada de que un reemplazo alternativo se debe lograr para su uso en protocolos de micropropagación comerciales (Afroz et al., 2010).

Se sabe que el agua de coco es una sustancia natural con altos niveles de zeatina en su composición y se ha encontrado que en los últimos años se ha incrementado su importancia en protocolos de micropropagación de especies importantes económicamente (Afroz et al., 2010).

Las aplicaciones del agua de coco se deben a su composición única de azúcares, vitaminas, minerales, proteínas, lípidos, aminoácidos, compuestos nitrogenados, ácidos orgánicos, enzimas y factores promotores del crecimiento. El agua de coco contiene ácido indol acético, la auxina primaria en plantas y varias citocininas como la cinetina, trans-zeatina, ribosido de zeatina y orto-topolina (Yonget *al.*, 2009).

El agua de coco también es conocida por estimular la división celular en otros cultivos debido a la presencia de citocininas y su uso como suplemento ha sido adoptado en muchos laboratorios en citrus y *Dendrobium* (Afroz et al., 2010).

Afroz et al. (2010) mencionan que el agua de coco y la bencil amino purina han sustituido con éxito a la zeatina en la micropropagación del olivo (*Olea europaea* L.).

Abd-almajidet *al.* (2010) encontraron en su estudio que la bencilaminopurina por sí sola fue el regulador del crecimiento más efectivo, indicando la especificidad de la citocinina para la regeneración y la inducción de brotes múltiples en los tejidos estudiados.

Para el experimento que incluyó agua de coco y benciladenina, no se produjeron brotes múltiples en las diferentes variedades empleadas, en todos los casos la respuesta fue similar, ya que a medida que se incrementó la concentración tanto de agua de coco, así como la benciladenina, las raíces de las plantas se perdieron, la longitud del tallo decreció y se indujo la formación de tejido calloso.

Edwin *et al.* (2008), mencionan que, cuando los niveles de citocinina son demasiado altos, causan la producción de muchos brotes pequeños que normalmente fallan en elongarse. Sin embargo en algunos tratamientos se produjeron mayor cantidad de segmentos nodales, sin mostrar diferencia significativa. Por ejemplo la variedad tipo heirloom Black Prince y la Priden's Purple, ambos con el tratamiento de (AC/BA) $100 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1} / 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$.

Para el experimento número 2 se combinaron las citocininas Benciladenina, Cinetina y Metaopolinaa diferentes concentraciones con el objetivo de inducir la brotación múltiple. En todos los casos, tanto la variedad comercial Aníbal, así como las variedades tipo *heirloom*, los resultados fueron similares ninguno produjo brotación múltiple y a medida que se incrementó la concentración de citocininas tanto la longitud de las plántulas, así como la cantidad de segmentos nodales se redujo, incluso la cantidad de callo fue en disminución; sin embargo, para las variedades tipo *heirloom* Black Prince y Cream Sausage no mostraron una diferencia significativa en cuanto al número de segmentos nodales producidos en los tres tratamientos empleados.

Edwin *et al.* (2008), mencionan que resulta importante elegir una auxina a una concentración que promoverá el crecimiento sin inducir la formación de callo.

Para la etapa de enraizamiento no se adicionó ningún regulador del crecimiento para inducir el crecimiento de la raíz bajo las condiciones tratadas; esto sugirió que los genotipos de tomate poseían los suficientes niveles de reguladores endógenos y por lo tanto que facilitó el enraizamiento.

Al observarse ésta capacidad de la planta del tomate resulta importante ya que puede presentar una disminución en los costos en la etapa de enraizamiento y posteriormente para su aclimatación, puesto que puede enraizar directamente en medio MS sin la adición de reguladores de crecimiento, lo cual representa un ahorro.

Las plantas provenientes de semilla e *in vitro* no mostraron ninguna diferencia aparente al ser evaluadas visualmente, tomando en cuenta el desempeño en invernadero bajo las condiciones estudiadas, en la figura 17 se observó una diferencia significativa en la velocidad y la fuerza de crecimiento entre plantas de ambos orígenes de la misma variedad. Con lo que se demuestra que las plantas provenientes de cultivo *in vitro* tuvieron un desempeño semejante a las que provinieron de semilla.

En promedio, la planta de tomate bola con un equilibrio adecuado tiene un crecimiento semanal de 20 a 21 cm. Si su crecimiento es superior, se considera que está muy vegetativa, por el contrario, si el crecimiento semanal es menor, está en un estado netamente generativo. Aunque estos niveles pueden variar con el genotipo. Estos datos tomados y comparados de un ciclo a otro y de un genotipo a otro, empiezan a dar sentido al técnico y le permiten realizar ajustes particulares para su región, ciclo y genotipo de que se trate (Castellanos, 2009).

Castellanos (2009), menciona que el tallo crece normalmente a un ritmo de 18 a 27 cm por semana, dependiendo del genotipo y de las condiciones de temperatura. En promedio, una planta de tomate bola con un equilibrio adecuado tiene un diámetro creciente de 11 a 12 mm; si el diámetro es de 13 mm o superior, se considera que está en una condición vegetativa, por el contrario, si el diámetro del tallo a la altura de crecimiento de una semana anterior es de 1 cm o menor, está en una condición generativa.

Debido a que el crecimiento de cada variedad depende del genotipo, al ser comparado con los estándares del tomate bola, las variedades tipo *heirloom*, mostraron un crecimiento vegetativo que cambió a crecimiento productivo cuando se realizó el cambio en la concentración de la solución nutritiva.

Tanto las plantas de la variedad tipo *heirloom* Pruden's Purple, provenientes de *cultivo in vitro*, así como las de semilla presentaron una probable fitotoxicidad (Figura 25), ya que mostraron daños en la periferia de las hojas en las 12 plantas provenientes de *in vitro*, mientras que para las provenientes de semilla solo una de 12 plantas logró sobrevivir a esta condición. Se realizó un ajuste en la concentración de la solución nutritiva, reduciéndola al 50% de los nutrientes, pero el daño no cesó la planta sólo continuó su crecimiento para posteriormente marchitarse.

Goykovic y Saavedra (2007) mencionan que, a nivel de raíces, las sales alteran la absorción de agua afectando el crecimiento de estos órganos también actúan produciendo efectos tóxicos. La magnitud de las respuestas de las plantas se encuentra estrechamente

relacionada a la concentración de las sales, a la duración del estrés a que están expuestas y a la especie o cultivar que se trate. La parte aérea de las plantas de tomates igualmente es afectada por la salinidad; las plantas alcanzan una menor altura, las hojas se presentan en menor número y a la vez manifiestan una disminución en su densidad estomática, presentan clorosis y necrosis principalmente en los bordes de las hojas. El área foliar también disminuye



Figura 25. Probable fitotoxicidad expresada en las hojas de las plantas de la variedad tipo *heirloom* Pruden's Purple desarrolladas a partir plántulas cultivadas *in vitro* y semilla, y trasplantadas a un invernadero semi-hidropónico.

La planta que se adaptó a esta condición fue la única que además de recuperarse y crecer produjo frutos, aunque presentaron un desorden fisiológico conocido como catface en frutos de la variedad tipo *heirloom* Pruden's Purple (Figura 26), este desorden fisiológico produce frutos irregularmente deformados y a veces presentan protuberancias, pero sobre todo cicatrices acorchadas más o menos extensas y espectaculares en su zona estilar que cubren una porción importante del fruto, afecta a cultivos que han sido sometidos a condiciones climáticas desfavorables durante la floración y el cuajado del tomate ligadas a una mala salida de flores y una calidad defectuosa del polen (Castellanos, 2009).

La variedad Pruden's Purple mostró una mayor susceptibilidad a las temperaturas extremas; puesto que los factores que provocan la aparición del *catface* son las condiciones climáticas al momento de la floración demasiado frías o demasiado cálidas, así como una escasa luminosidad y abonos nitrogenados excesivos que agravan igualmente el "*catface*".



Figura 26. Desarrollo de frutos que presentan deformación tipo *catface*, provenientes de la variedad tipo *heirloom* Pruden's Purple, desarrolladas a partir plántulas de semilla, y cultivadas en un invernadero semi-hidropónico.

Se observó otro desorden fisiológico conocido como rajeteado de frutos o *cracking*, la cual es provocada por los cambios bruscos en el suministro de agua bajo sustrato durante el crecimiento del fruto

En combinación con un aumento de intensidad lumínica, reduciendo la elasticidad de la piel del fruto y provocando el aumento de presión de gas e hidrostática de la pulpa sobre la piel, resultando en un rajeteado visible en los frutos maduros o próximos a madurez (Castellanos, 2009).

La variedad Black Prince (Figura 27), resultó ser susceptible al desorden fisiológico conocido como *cracking* radial; el porcentaje se incrementa con el número de frutos por racimo, otras causas son; gran tamaño del fruto, baja fuerza de tensión en la piel, poca elasticidad en la etapa de maduración de fruto rosado, piel y pericarpio delgados, cubierta grasosa del tallo muy somera, pocos frutos por planta y fruto no sombreado por follaje (Castellanos, 2009).



Figura 27. Desarrollo de frutos que presentan deformación tipo “*cracking*”, provenientes de la variedad tipo *heirloom* Black Prince, desarrolladas a partir plántulas de semilla, y cultivadas en un invernadero semi-hidropónico.

Los valores obtenidos de los frutos de tomate maduro de las diferentes variedades tipo *heirloom*, así como la variedad comercial para las pruebas de acidez titulable, actividad antioxidante, fenoles solubles, determinación de antocianinas, sólidos solubles y pH demostraron que las variedades estudiadas tienen cualidades nutricionales similares y en algunos casos mejores que la variedad comercial.

La prueba de medición del color en los frutos de tomate es de suma importancia ya que en adición a la calidad externa, la evaluación del color puede ayudar en la selección de otros compuestos de valor nutricional, la pigmentación roja de los frutos es el resultado de la presencia de licopeno (Rodríguez-Burruezo *et al.*, 2005).

De esta manera, la selección de frutos muy saturados de color rojo da como resultado un incremento en la concentración de este antioxidante. El color del fruto depende del contenido de pigmentos carotenoides, el pigmento rojo licopeno, y menos extendido el beta

caroteno. Los carotenoides no están homogéneamente distribuidos en el fruto y el pericarpio exterior muestra la mayor concentración en el fruto (Razdan y Mattoo, 2007).

Los carotenoides son un conjunto de compuestos relacionados estructuralmente que proporcionan color en la naturaleza. En los vegetales desempeñan dos funciones esenciales: son pigmentos accesorios del proceso de fotosíntesis y proporcionan fotoprotección (Zapata *et al.*, 2007).

En los productos agrícolas, la firmeza es un atributo de calidad de vital importancia. Sin embargo, muchas cuestiones no están todavía resueltas. Las células de los vegetales no son una estructura estática, sino que son de naturaleza dinámica. Estos cambios en la composición y estructura ocurren continuamente durante el desarrollo de las plantas. Las propiedades texturales pueden servir como un indicador de madurez o procesabilidad de los alimentos y como un parámetro de calidad para el consumidor (Zapata *et al.*, 2007).

La firmeza es una característica clave para la comercialización del tomate, la variedad comercial Aníbal mostró tener mayor firmeza en comparación con los tomates tipo *heirloom*, esto pudo deberse a que los tomates comerciales tienen genes inhibidores de la producción de etileno; las alteraciones en el proceso de madurez pueden afectar las cualidades organolépticas de las frutas (Rodríguez-Burruezo *et al.*, 2005).

Razdan y Mattoo (2007), mencionan que el consumo del tomate hace una gran contribución de compuestos antioxidantes a la dieta, han sido identificados más de 4,000 fitoquímicos fenólicos; flavonoides, ácidos fenólicos y polifenoles son las principales clases de fenoles de la dieta.

Motohashi y Sahagami (2009), mencionan que las antocianinas son proantocianidinas de tipo de flavonoide distribuidos en varias frutas.

Los flavonoides son abundantemente distribuidos en el reino natural y han sido conocidos por un largo tiempo. Los flavonoides podrían haber evolucionado para proteger a las

plantas del daño oxidativo de la luz solar; el contenido de antocianinas puede variar de una fruta a otra del mismo tipo debido a factores externos e internos, tales como los factores genéticos y agronómicos, intensidad y tipo de luz, la temperatura, el procesamiento y el almacenamiento (Pascual-Teresa y Sanchez-Ballesta, 2007).

VII. Conclusiones

Utilizando el protocolo de desinfección para las semillas de tomate se establecieron cultivos asépticos de las variedades de tomate empleadas. Por medio de subcultivo de segmentos nodales se realizó la multiplicación del material vegetal para que se llevaran a cabo los experimentos con las diferentes combinaciones de reguladores del crecimiento vegetal.

Se realizaron experimentos con reguladores del crecimiento vegetal, sin obtener brotación múltiple. El genotipo es el factor determinante en el crecimiento del cultivo *in vitro*.

Se indujo el enraizamiento de los brotes obtenidos sin la adición de reguladores del crecimiento, lo que puede influir en la decisión para elegir un método de multiplicación *in vitro*, debido a que el porcentaje de supervivencia de las plántulas aclimatadas y posteriormente trasplantadas a invernadero, fue de 100%.

En la etapa de cultivo semihidropónico se debe tener especial cuidado y control con la concentración de nutrientes en solución, la intensidad lumínica y la temperatura, para producir plantas productivas con frutos sin desordenes fisiológicos.

Con los resultados obtenidos al analizar los frutos maduros producidos en invernadero de las variedades de tomate empleadas, se puede afirmar que no hay diferencia significativa entre los frutos provenientes de plantas cultivadas *in vitro* y los provenientes de semilla. Por lo tanto la propagación *in vitro* puede considerarse como una opción viable para la producción de las plantas que serían llevadas a producción en invernadero.

Los frutos maduros de las variedades empleadas provenientes de semilla y cultivo *in vitro*, produjeron resultados similares referente a la prueba de acidez titulable, por lo que se puede afirmar que no hay diferencia entre ellos.

Los frutos maduros analizados de las variedades empleadas provenientes de semilla y cultivo *in vitro*, produjeron resultados similares respecto a la prueba de fenoles totales, por lo tanto no hay diferencia entre ellos.

Al igual que las pruebas antes mencionadas ocurre lo mismo con la prueba de actividad antioxidante, pH y grados Brix en los frutos de las variedades empleadas provenientes de semilla y cultivo *in vitro*.

Los frutos de la variedad tipo *heirloom* Black Prince, poseen una coloración más intensa que los demás y después de realizar la prueba de determinación de antocianinas se muestra que en realidad éste fruto las contiene.

Se demostró que la propagación por medios biotecnológicos, así como el cultivo semihidropónico en invernadero, son opciones viables para la producción de jitomate de variedades no convencionales, ofreciéndose así una alternativa para la diversificación de la producción de éste fruto.

VIII. Referencias

Abd-almajid N., Mohd R., Mohamed H. 2010. In vitro response from cotyledon and hypocotyls explants in tomato by inducing 6-benzylaminopurine. African Journal of Biotechnology. Vol. 9(30). pp. 4802-4807

Abdel-Aal E. S. y Hucl P. 1999. A rapid method for quantifying total anthocyanins in blue aleurone and purple pericarp wheats. Cereal Chemistry. 76 (3): 350-354

Afroz A., Chaudhry A., Rashid U., Rashid M. y Muhammad G. 2010. Enhanced regeneration in explants of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) with the treatment of coconut water. African Journal of Biotechnology. Vol 9 (24) pp. 3634-3644

Bai Y., y Lindhout P. 2007. Domestication and breeding of tomatoes: what have we gained and what can we gain in the future? Annals of Botany. Vol. 100. Netherlands. Oxford University Press. pp: 1085-1094.

Bazaldúa-Muñoz C., Ventura-Zapata E., Salcedo-Morales G., Maldonado-Amaya U., y López-García A. 2008. Densidad estomatal y potencial hídrico en plantas de tomate (*Physalis ixocarpa* Brot.), propagados en cultivo de meristemos. Revista Chapingo Serie Horticultura. Vol. 14. Núm. 2. México. Redalyc. pp: 147-150.

Bhatia P., Ashwath N. 2004. Comparative performance of micropropagated and seed-grown tomato plants. Biologia Plantarum. Vol 48. Núm. 4. Australia. pp. 625-628.

Bhatia P., Ashwath N., Senaratna T., y Midmore D. 2004. Tissue culture studies of tomato (*Lycopersicon esculentum*). Plant Cell, Tissue and Organ Culture. Vol. 78. Netherlands. Kluwer Academic Publishers. pp: 1-21.

Brand W., Cuvelier M., Berset C. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie. 22: 25-30

Castellanos J. 2009. Manual de producción de tomate en invernadero. México: Intagri.

Díaz F., R. 2004. Selección de sustratos para la producción de hortalizas en invernadero. Memorias del IV Simposio Nacional de Horticultura. Invernaderos: Diseño, Manejo y Producción. México. Universidad de Guanajuato. pp: 44-68.

Edwin F., Hall M., Geert-Jan D. 2008. Plant Propagation by Tissue Culture. 3a Ed. Vol 1. Springer.

Fukumoto L. y Mazza G. 2000. Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48: 3597-3604

García M., L. Martínez V. Avendaño A., N. Padilla M., C. e Izquierdo H. 2009. Acción de los oligosacáridos en el rendimiento y calidad de tomate. *Fitotecnia Mexicana*. Vol. 32. Núm. 4. México. Redalyc. pp: 295-301

Gómez P. y Camelo A. 2002. Calidad postcosecha de tomates almacenados en atmósferas controladas. *Horticultura Brasileira*. Vol. 20. Núm. 1. Brasil. Inta. pp: 38-43

Goykovic V., y Saavedra G. 2007. Algunos efectos de la salinidad en el cultivo del tomate y prácticas agronómicas de su manejo. *Idesia*. Vol. 25. Núm. 3. Chile. Scielo. pp: 47-58.

Guzmán-Plazola R., A., Fajardo-Franco M., L., García-Espinoza R., Cadena-Hinojosa M., A. 2011. Desarrollo epidémico de la cenicilla y rendimiento de tres cultivares de tomate en la comarca lagunera, Coahuila, México. *Agrociencia*. Vol. 45. Núm. 3. México. Colpos. pp:363-378.

Inegi. 2012. El sector alimentario en México 2012. México. Núm. 26. Serie estadísticas Sectoriales. pp: 59-60

Jaramillo J., Rodríguez V., Zapata M., y Rengifo T. 2007. Manual Técnico: Buenas Prácticas Agrícolas en la producción de tomate bajo condiciones protegidas. (1a Ed.). Colombia: Corpoica.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Jordan J., A. 2007. The heirloom tomato as cultural object: investigating taste and space. *Sociologia Ruralis*. Vol. 47. Oxford. Blackwell Publishing. pp: 20-41.

Labate J., A., Grandillo S., Fulton T. 2007. Chapter 1 tomato. En Kole C. (Ed.). *Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants*. Vol. 5. Berlin Heidelberg. Springer-Verlag. pp: 1-125

Lazcano I. 2008. Deficiencia de calcio en tomate (*Lycopersicon esculentum* L.). *Informaciones Agronómicas*. Núm. 39. México. International Plant Nutrition Institute. pp: 7-8.

López-Pérez L., Cárdenas-Navarro R., Lobit P., Martínez-Castro O., y Escalante-Linares O. 2005. Selección de un sustrato para el crecimiento de fresa en hidroponía. *Fitotecnia Mexicana*. Vol. 48. Núm. 2. México. Scielo. pp: 171-174.

Mansour A. Ismail H., M. Ramadan M., F. y Gyulai G. 2009. Variations in tomato (*Lycopersicon esculentum*) cultivars grown under heat stress. *J. Verbr. Lebensm.* No. 4. Basel. Birkhäuser Verlag. pp: 118-127

Motohashi N. y Sahagami H. 2009. Anthocyanins as Functional Food Colors. En Gupta R., R. (ed) *Top Heterocycl Chem*. Vol 16. USA. Springer. pp: 1-40.

Pascual-Teresa S. y Sanchez-Ballesta M. 2007. Anthocyanins: from plant to health. *Phytochem*. pp. 281-299.

Pérez-Molphe-Balch E., Ramírez-Malagón R., Nuñez-Paleniús, H.G., Ochoa-Alejo, N. 1999. *Introducción al Cultivo de Tejidos Vegetales*. Universidad Autónoma de Aguascalientes. ISBN. 968-6259-62-7

Razdan M., Mattoo, A. 2007. Genetic Improvement of Solanaceous Crops. Science Publishers. Vol. 2: Tomato. Sustainable Agricultural Systems Laboratory Beltsvill, MD. USA.

Rodríguez-Burruezo A., Prohens J., Rosello S. y Nuez F. 2005. "Heirloom" varieties as sources of variation for the improvement of fruit quality in greenhouse-grown tomatoes. Journal of horticultural Science and Biotechnology. 80 (4) pp. 453-460

Salawu E., O. 2010. Lycopersicon esculentum (Tomato) prevents adverse effects of lead on blood constituents. Malaysian J MedSci. pp: 13-18.

Santiago J., Mendoza M. y Borrego F. 1998. Evaluación de tomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill) en invernadero: criterios fenológicos y fisiológicos. Agronomía mesoamericana. Vol. 9. Núm. 1. México. Universidad Autónoma Agraria. pp: 59-65.

Singleton V., Orthofer R., Lamuela-Raventos, R.M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of the Folin-Ciocalteu reagent. Meth. Enzymol. 299: 152-178

Steinitz B. Amitay A. Gaba V. Tabib Y. Keller M. y Levin I. 2006. A simple plant regeneration-ability assay in a range of *Lycopersicon* species. Springer. pp: 269–278.

Velazco-Hernández E., Miranda-Velázquez I., Nieto-Ángel R., y Villegas-Rodríguez H. 2004. Evaluación de sustratos y variedades en la producción protegida de Jitomate. Chapingo Serie Horticultura 10. México. Universidad Autónoma de Chapingo. pp: 239-246.

Yong J., Ge L., Ng Y., Ng S. 2009. The chemical composition and biological properties of coconut (*Cocos nucifera* L.) Water. Molecules. 14 pp. 5144-5164

Zapata L., Gerard L., Davies C., Oliva L. y Schwab M. 2007. Correlación matemática de índices de color del tomate con parámetros texturales y concentración de carotenoides. Ciencia, Docencia y Tecnología N° 34, Año XVIII. pp. 207-226

