



UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS, RECURSOS
NATURALES Y DEL AMBIENTE

CARRERA DE INGENIERIA AGRONOMICA

TEMA:

MICRO PROPAGACIÓN IN VITRO DE PLANTAS DE TOMATE DE
ÁRBOL SILVESTRE (*Solanum sp.*) CON DOS TIPOS DE
FITORREGULADORES, APLICADOS EN TRES DOSIS

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
INGENIERO AGRÓNOMO, OTORGADO POR LA UNIVERSIDAD ESTATAL DE
BOLÍVAR A TRAVÉS DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS,
RECURSOS NATURALES Y DEL AMBIENTE, CARRERA DE INGENIERÍA
AGRONÓMICA.

AUTOR:

ALVARO XAVIER PAZMIÑO GAIBOR

DIRECTORA DE PROYECTO
ING. SONIA M. SALAZAR RAMOS Mg.

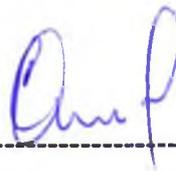
GUARANDA – ECUADOR
2017

MICRO PROPAGACIÓN IN VITRO DE PLANTAS DE TOMATE DE ÁRBOL SILVESTRE (*Solanum sp.*) CON DOS TIPOS DE FITORREGULADORES, APLICADOS EN TRES DOSIS.

REVISADO Y APROBADO POR:



**ING. SONIA SALAZAR RAMOS Mg.
DIRECTORA**



**ING. JOSÉ SÁNCHEZ MORALES Mg.
BIOMETRISTA**



**ING. RODRIGO YÁNEZ GARCÍA Msc.
REDACCIÓN TÉCNICA**

CERTIFICACIÓN DE AUTORÍA

Yo, Álvaro Xavier Pazmiño Gaibor, con CI N° 0201813334, declaro que el trabajo y los resultados reportados en esta investigación, no han sido previamente presentados para ningún grado o calificación profesional; y, que las referencias bibliográficas que se incluyen han sido consultadas y citadas con su respectivo autor(es).

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



Álvaro Xavier Pazmiño
0201813334



Ing. Sonia Salazar Ramos
0200933067



Ing. José Sánchez Morales
1801537984





Factura: 001-002-000008637



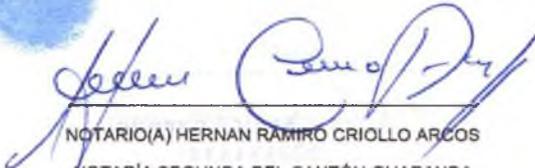
20170201002D00367

DILIGENCIA DE RECONOCIMIENTO DE FIRMAS N° 20170201002D00367

Ante mí, NOTARIO(A) HERNAN RAMIRO CRIOLLO ARCOS de la NOTARÍA SEGUNDA , comparece(n) ALVARO XAVIER PAZMIÑO GAIBOR portador(a) de CÉDULA 0201813334 de nacionalidad ECUATORIANA, mayor(es) de edad, estado civil CASADO(A), domiciliado(a) en QUITO, POR SUS PROPIOS DERECHOS en calidad de COMPARECIENTE; quien(es) declara(n) que la(s) firma(s) constante(s) en el documento que antecede RECONOCIMIENTO DE FIRMA, es(son) suya(s), la(s) misma(s) que usa(n) en todos sus actos públicos y privados, siendo en consecuencia auténtica(s), para constancia firma(n) conmigo en unidad de acto, de todo lo cual doy fe. La presente diligencia se realiza en ejercicio de la atribución que me confiere el numeral noveno del artículo dieciocho de la Ley Notarial -. El presente reconocimiento no se refiere al contenido del documento que antecede, sobre cuyo texto esta Notaria, no asume responsabilidad alguna. – Se archiva un original. GUARANDA, a 14 DE JULIO DEL 2017, (11:28).


ALVARO XAVIER PAZMIÑO GAIBOR
CÉDULA: 0201813334




NOTARIO(A) HERNAN RAMIRO CRIOLLO ARCOS
NOTARÍA SEGUNDA DEL CANTÓN GUARANDA



DEDICATORIA

A mis queridos padres Cesar Augusto y Ximena Alexandra, a mi amada esposa Hibeth Sheralee, por el apoyo y la paciencia que nunca fueron quebrantados ni dudaron de mí y de mi trabajo, a mi adorada hija Sofía Sheralee, por ser la razón de todo el esfuerzo invertido en mis estudios y es quien me impulsa a buscar la autorrealización como persona y como profesional, a mí hermano Cesar Augusto por sus valiosos consejos y apoyo incondicional, a mis queridos abuelos quienes siempre estuvieron pendientes de mi accionar como estudiante y a mis ancestros sefarditas por su legado cultural.

Álvaro Xavier Pazmiño Gaibor.

AGRADECIMIENTO

A la Ingeniera Agrónoma Sonia Salazar Ramos por haberme inculcado la importancia de los ecotipos silvestres y sus potenciales proyecciones dentro del área agronómica y por haber dirigido esta investigación, al Ingeniero Agrónomo José Sánchez Morales por su aporte importantísimo en la parte estadística de esta investigación y por sus consejos para mi futuro accionar como profesional, al Ingeniero Agrónomo Rodrigo Yáñez García por su aporte en la redacción técnica de este documento y por su ejemplo de calidad humana, al Ingeniero Agrónomo Víctor Hugo Cortéz Sandoval por su ayuda, apoyo y colaboración dentro del proceso investigativo en el laboratorio de biotecnología y por todos los conocimientos en el área de cultivos in vitro que me ha transmitido, a todos aquellos docentes que fueron mis maestros durante mi transitar por la carrera de Ingeniería Agronómica, en especial al ingeniero Bolívar Espín por haberme inculcado principios, valores y conocimientos necesarios para el desenvolvimiento como persona y como profesional.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Contenido	Página
I. INTRODUCCIÓN	1
II. PROBLEMA	3
III. MARCO TEÓRICO	5
3.1. El cultivo de tomate de árbol	5
3.2. Taxonomía:	8
3.3. Descripción botánica.....	9
3.3.1. Raíz	9
3.3.3. Hojas	9
3.3.4. Flores.....	9
3.3.5. Frutos	10
3.3.6. Semilla	10
3.4. Variedades Comerciales.....	10
3.5. Exigencia del cultivo.....	11
3.5.1. Condiciones agroecológicas.....	11
3.5.2. Requerimientos edáficos	12
3.5.3. Propagación.....	12
3.5.4. Propagación sexual	12
3.5.5. Propagación asexual.....	13
3.6. La Biotecnología.....	14
3.6.1. Biotecnología roja.....	14
3.6.2. Biotecnología blanca.....	14
3.6.3. Biotecnología verde	15
3.6.4. Biotecnología azul.....	15
3.6.5. La Biotecnología Agrícola.....	15
3.7. Micro propagación	16
3.7.1. Medios de cultivo.....	16
3.7.2. Sales minerales MS (Murashige y Skoog, 1962) en (mg/lt)	17
3.7.3. Micronutrientes en mg/lt.....	18
3.7.4. Vitaminas en mg/lt.....	18
3.7.5. Gelificante en g/lt.....	18
3.7.6. Fuente de energía en g/lt	19
3.7.7. Elaboración de soluciones del medio de cultivo murashige y skoog	19
3.7.8. Fitoreguladores.....	19
3.7.9. Citoquininas	19

3.8.	Plagas y enfermedades más importantes.....	20
3.8.1.	Nematodos	20
3.8.2.	Síntomas generales de los nematodos	23
3.8.3.	Control	23
3.8.4.	Control general de plagas y enfermedades.....	24
3.8.5.	Labores culturales	24
IV.	MARCO METODOLÓGICO.	25
4.1.	MATERIALES	25
4.1.1.	Ubicación de la investigación	25
4.1.2.	Condiciones geográficas y climáticas	25
4.1.3.	Material experimental	26
4.1.4.	Materiales de campo	26
4.1.5.	Material de laboratorio.....	26
4.1.6.	Material de oficina	27
4.1.7.	Equipos de oficina.....	28
4.2.	MÉTODOS	28
4.2.1.	Factores en estudio.....	28
4.2.2.	Tratamientos	28
4.2.3.	Tipo de diseño (DCA).....	29
4.2.4.	Datos Tomados	29
4.2.5.	Tipo de análisis	30
4.3.	Manejo del ensayo	31
4.4.	Plan de procesamiento y análisis	32
V.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	33
5.1.	VARIABLES AGRONÓMICAS	33
5.2.	FACTOR A (FITORREGULADORES)	33
5.3.	FACTOR B (DOSIS DE FITORREGULADORES).....	38
5.4.	INTERACCIÓN DE FACTORES A x B	42
5.5.	ANÁLISIS DE CORRELACIÓN Y REGRESIÓN LINEAL	45
5.5.1.	Coefficiente de correlación “r”	45
5.5.2.	Coefficiente de regresión “b”	45
5.5.3.	Coefficiente de determinación “R ² ”	46
VI.	COMPROVACIÓN DE LA HIPÓTESIS.....	47
VII.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	48
7.1.	CONCLUSIONES	48
7.2.	RECOMENDACIONES.....	50

BIBLIOGRAFÍA.....	51
--------------------------	-----------

ÍNDICE DE CUADROS

N°	Descripción	Pág.
Cuadro N° 1.	Resultados de la Prueba de Tukey para comparar los promedios del FA (Fitorreguladores) en las siguientes variables: Número de brotes por explante (NBE); Número de hojas por brote (NHB); Altura de brotes (AB); Volumen de raíz (VR) y Número de magentas contaminadas (NMC).....	33
Cuadro N° 2.	Análisis de Tendencias Polinomiales para el Factor B (Dosis de Fitorreguladores) en las siguientes variables: Número de brotes por explante (NBE); Número de hojas por brote (NHB); Altura de brotes (AB); Volumen de raíz (VR) y Número de magentas contaminadas (NMC).....	38
Cuadro N° 3.	Resultados de la prueba de Tukey al 5% para comparar los promedios de tratamientos en la interacción de factores AxB (Fitorreguladores x Dosis); en las siguientes variables: Número de brotes por explante (NBE); Número de hojas por brote (NHB); Altura de brotes (AB); Volumen de raíz (VR) y Número de magentas contaminadas (NMC).....	41
Cuadro N° 4.	Resultados del análisis de Correlación y Regresión Lineal; en las siguientes variables: Número de brotes por explante (NBE); Altura de brotes (AB) y Dosis (FB) comparadas con el Número de hojas por brote (NHB).....	45

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Nº	Descripción	Pág.
Gráfico N° 1.	Resultados del FA obtenidos en la variable Número de brotes por explante (NBE).....	34
Gráfico N° 2.	Resultados del FA obtenidos en la variable Número de hojas por brote (NHB).	35
Gráfico N° 3.	Resultados del FA obtenidos en la variable Altura de brotes (AB) en cm.	36
Gráfico N° 4.	Resultados del FA obtenidos en la variable Volumen de raíz (VR) en g.	36
Gráfico N° 5.	Resultados del FB obtenidos en la variable Número de brotes por explante (NBE).	39
Gráfico N° 6.	Resultados del FB obtenidos en la variable Número de hojas por brote (NHB).	40
Gráfico N° 7.	Resultados del FB obtenidos en la variable Altura de brotes (AB).	40
Gráfico N° 8.	Promedios de la interacción AxB en la variable Número de brotes por explante (NBE).	42
Gráfico N° 9.	Promedios de la interacción AxB en la variable Número de hojas por brote (NHB).	43
Gráfico N° 10.	Promedios de la interacción AxB en la variable Altura de brotes (AB).	44

RESUMEN Y SUMMARY

RESUMEN

El cultivo de tomate de árbol es muy importante debido a su importancia nutricional y organoléptica. Esta fruta tiene una alta demanda en el mundo, siendo un catalizador de la economía a nivel mundial. En el país y en la región Interandina es donde más se produce, especialmente en la provincia de Tungurahua. Es uno de los cultivos que más problemas fitosanitarios presentan y es muy susceptible a los nematodos. En este sentido los ecotipos silvestres al presentar alta tolerancia a problemas de sanidad radicular, pueden servir de base genética para procesos de Fitomejoramiento, generando porta injertos para los cultivares menos tolerantes, permitiendo mejorar la calidad del fruto y evitando el uso exagerado de pesticidas. La biotecnología contribuye a resolver dichos problemas con estrategias de mejoramiento productivo como es la utilización de un ecotipo silvestre rústico del callejón interandino, tolerante al ataque de nematodos junto con las ventajas de asepsia que ofrece la propagación in vitro. Los objetivos de esta investigación fueron: i) Establecer qué fitoregulador proporcionara un mayor desarrollo de los explantes. ii) Evaluar la dosificación que permita un mayor número de explantes. Este trabajo se desarrolló en el laboratorio de Biotecnología de la UEB, granja Laguacoto II, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar. Se utilizó un diseño completamente aleatorio (DCA), con 6 tratamientos y 3 repeticiones. Se realizaron análisis de varianza, prueba de tukey al 5 %, para comparar promedios, tendencias polinomiales y análisis de correlación y regresión simple. Los resultados de importancia fueron: mayor número de brotes, número de hojas, altura de brotes y volumen de raíz en los tratamientos con Bencil adenina (A1). Se determinó que el mejor tratamiento fue el T2 (A1B2) con un promedio de 3 brotes por explante, 4 hojas por brote y 3 cm de altura por cada brote. Las variables que incrementaron el desarrollo de los explantes fueron: NBE, AB y Dosis. Finalmente se pudo generar alternativas tecnológicas para producción de plantas de tomate silvestre con la idea de generar porta injertos con un alto porcentaje de desarrollo, un mayor número de plántulas de alta calidad, además rusticidad genética brindando tolerancia fitosanitaria.

Palabra clave: ecotipo silvestre “Es”

SUMMARY

The cultivation of tomatoes tree is very important all over the world due to its nutritional and organoleptic importance. This fruit is one of the most significant items due to its high demand, being a catalyst of the world economy. In our country in the inter-Andean region is where this fruit is produced the most, especially in the province of Tungurahua. It is one of the crops that presents the most phytosanitary problems and it is very susceptible to the nematodes. In this sense, the wild ecotypes presenting high tolerance to root health problems, it can serve as a genetic basis for Breeding processes, generating portal grafts for the less tolerant cultivars, allowing to improve fruit quality and avoid the excessive use of pesticides. Biotechnology contributes to solve these problems with productive improvement strategies such as the use of a rustic wild ecotype of the Inter-Andean alley, tolerant to nematode attack along with the advantages of asepsis offered by in vitro propagation. The objectives of this research were: I) To establish which phytohormone would provide a greater development of the explants. II) Evaluate the dosage that allows a greater number of explants. This work was developed in the biotechnology laboratory of the UEB, Laguacoto II farm, Guaranda canton, Bolívar province. A completely randomized design (DCA) was used, with 6 treatments and 3 replicates. We performed variance analysis, test of tukey at 5%, test to compare averages, polynomial trends and correlation and simple regression analyzes. The most important results were: a higher number of shoots, number of leaves, shoot height and root volume in the treatments with Bencil adenine (A1). It was determined that the best treatment was T2 (A1B2) with an average of 3 outbreaks per explant, 4 leaves per outbreak and 3 cm in height for each outbreak. The variables that increased the development of the explants were: NBE, AB and Dose. Finally, it was possible to generate technological alternatives for the production of wild tomato plants with the idea of generating portal grafts with a high percentage of development, a higher number of high quality seedlings, and genetic rusticity providing phytosanitary tolerance.

Keyword: Wild ecotype “Es”

I. INTRODUCCIÓN

El cultivo de tomate de árbol es muy apetecido tanto en nuestro continente como en todo el mundo, a nivel internacional Viet Nam fue el principal exportador de esta fruta en el 2008, generando el 12% del mercado a nivel mundial ya a nivel regional el país con más producción es Colombia y de sus principales exportaciones destino son Estados Unidos y Canadá. (Soria, N. 2009)

En nuestro país la región interandina es donde más produce este frutal en total se cultivan 14.748 hectáreas, la provincia que más produce es Tungurahua con 8.300 hectáreas. (Lucas, K. et al., 2011)

La producción anual en Tungurahua representa el 27,1% respecto a la producción nacional y el 98,8% de la producción se destina a la venta. (INEC, Instituto Nacional de Estadística y Censos. ESPAC, Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua, 2012, EC)

Estados Unidos es el principal socio comercial ecuatoriano captando un 53% de las exportaciones totales en valores FOB. (Galarza, A. 2009)

Lamentablemente en el Ecuador no existen variedades propiamente dichas, con excepción del híbrido Mora introducido desde Nueva Zelandia, obtenido del cruzamiento entre el Rojo Puntón y el Negro Silvestre Lojano. Los principales cultivares son: Amarillo, Negro Redondo, Puntón (común) Rojo, Amarillo Gigante, Mora (Neozelandés) y Mora Ecuatoriana. (Revelo, J. et al., 2011)

En razón de que nuestro mundo vive momentos de grandes cambios, marcados por la “era del conocimiento” y de la necesidad de dar respuestas a las demandas de la sociedad contemporánea que implica un enfoque innovador del talento humano especialmente en la participación en la investigación científica técnica y que ha tomado gran importancia en las instituciones de educación superior con las tecnologías vanguardistas, en este sentido la biotecnología verde posibilita desde un enfoque innovador la capacidad de contribuir a resolver problemas puntuales como es la sanidad en el cultivo de tomate de árbol y añadiendo un vector clave en

las estrategias de mejoramiento productivo como es la utilización de un ecotipo silvestre rústico de la sierra ecuatoriana junto con las ventajas de asepsia que ofrece la propagación in vitro que hace que esta tecnología relativamente nueva en nuestro país se proyecte con un valor estratégico fundamental en la producción de platas sanitariamente calificadas, utilizándose el tomate de árbol silvestre (*Solanum sp.*), tolerante al ataque de nematodos del género (*Meloidogyne*): (*M. incognita*, *M. javanica*, y *M. hapla*). (Cantuña N. 2013)

Los nematodos son una de las causas principales en las pérdidas de producción y rendimiento del cultivo de tomate de árbol y en este sentido los ecotipos silvestres al presentar alta tolerancia a problemas de sanidad radicular pueden servir en un futuro como base genética para procesos de Fitomejoramiento, pero más puntualmente en el aporte como porta injertos para los cultivares menos tolerantes, al integrar patrones porta injertos de origen silvestre al manejo de este cultivo se podrá mejorar la calidad del fruto ya que evitaría el uso exagerado de químicos en los controles fitosanitarios, mejorando la oferta de un producto de calidad y elevando el nivel de vida del productor al reducir el costo de producción, que es lo que inspira en primera instancia trabajar con el ejemplar de origen silvestre y como es el caso del eco tipo autóctono del Sector de Cascarillas en la parroquia San Pablo de Atenas, del cantón San Miguel, en la provincia Bolívar y consecuentemente generalizar los resultados a nivel local, nacional, regional, y mundial en un esfuerzo de contribuir a resolver el problema mayúsculo que significa el uso excesivo de pesticidas y la incidencia de patógenos y plagas en los cultivos.

Los objetivos planteados en esta investigación fueron:

- ✓ Micro propagar in vitro plantas de tomate de árbol silvestre.
- ✓ Establecer que fitoregulador proporcionara un mayor desarrollo de los explantes.
- ✓ Evaluar la dosificación que permita un mayor número de explantes.

II. PROBLEMA

El cultivo de tomate de árbol representa un catalizador de la economía a nivel mundial, debido a su importancia nutricional y organoléptica esta fruta es uno de los rubros más significativos por su alta demanda, pero también uno de los cultivos que más problemas fitosanitarios presenta en la actualidad sirviendo de hospedero a gran número de plagas y enfermedades, reflejando que el problema principal es el ámbito fitosanitario, específicamente una de las plagas más importantes son los nematodos del género (*Meloidogine spp*), los mismos que producen agallas en el sistemas radicular interrumpiendo absorción de agua y desdoblamiento de los nutrientes del suelo, además de servir de vectores de virus afectando directamente al rendimiento y productividad del cultivo y que los productores por la necesidad de controlar esta plaga han contribuido a la contaminación y degradando las tierras agrícolas en las cuales se produce este cultivo, asimismo disminuyendo la calidad del producto. Al implementar plantas silvestres, micropropagadas invitro siendo estos potenciales porta injertos tolerantes a esta plaga permitirá disminuir el uso de agroquímicos para el control fitosanitario especialmente con nematicidas y al ser plantas micro propagadas in vitro se garantizaría la sanidad vegetal, aumentando la producción cualitativa y cuantitativa de las especies comerciales que sean injertadas en el portaingerto.

¿Cómo incide la micro propagación in vitro de plantas de tomate de árbol silvestre (*Solanum sp.*) en la obtención de brotes sanos?

En la forma tradicional asexual del manejo del tomate de árbol aplicado al ecotipo silvestre con el que se trabajará se presentan problemas significativos de contaminación de brotes en estacas. En el ámbito de la biotecnología se maneja estrictos protocolos de asepsia dándose uso a una gran cantidad de desinfectantes como los peróxidos y clorhidratos, que manejados correctamente permiten evitar contaminaciones e incluso la muerte de los brotes de tal forma que los laboratorios de biotecnología son aptos para propagar plantas con problemas de contaminación como son los ecotipos silvestres, además que la biotecnología usando la micropropagación invitro se utiliza reactivos y bioactivadores o Fitoreguladores

que permiten obtener en menor tiempo un mayor número de plantas a partir de materiales vegetales en medios de proliferación que facilitan la obtención de un mayor número de brotes a partir de un solo explante. En el manejo tradicional del tomate de árbol comercial (*Solanum betaceum Cav.*) se excede el uso de nematicidas y aún más no se respeta la dosificación recomendada, por lo que se obtiene bajo rendimiento y producción, empobreciendo y contaminando el suelo agrícola y afectando la salud humana, además que reduce las posibilidades de exportación y la consecuencia directa de esto es el descenso de los ingresos económicos lo que genera pobreza.

III. MARCO TEÓRICO

3.1. El cultivo de tomate de árbol

Sobre el tomate de árbol silvestre “tomatillo” del sector cascarillas muy poco se sabe ya que las investigaciones sobre los eco tipos silvestres en nuestro país son muy escasos, su morfología se distingue fácilmente de los cultivares comerciales, el fruto que es de superficie rugosa y no lisa como los frutos conocidos en los mercados y su forma es más cónica, la morfología en general como es de esperar tiene un aspecto más rustico, entre los pocos estudios efectuados a este eco tipo silvestre se encuentra la investigación realizada por la ingeniera agrónoma Sonia Salazar docente de la Universidad Estatal de Bolívar quien determino según la comparación con accesiones silvestres de Palora y Santo Domingo que el “tomatillo” específicamente del sector cascarillas es tolerante a los nematodos del género (*Meloidogine spp.*).

Este ejemplar silvestre se encuentra en su habitat natural a 2750 msnm. Con una temperatura promedio de 12°C. El clima es templado y cálido. Con lluvias intensas en invierno y con menos precipitaciones en verano. Las precipitaciones pueden llegar a 904 mm y humedad relativa de 70-90%. La planta presenta estas características tiene una altura 2,5 m, diámetro del tronco tomado a un metro del suelo 15 cm el tallo tiene disposición dicotómica formando un molinillo, tiene consistencia herbácea en la etapa juvenil y semileñosa en la etapa adulta. Las hojas son grandes enteras acorazonadas de color verde cenizo en el haz y verde oscuro en el envés, están ubicadas de forma alterna en el tallo, además presenta pubescencia tanto en el haz como en el envés. Las flores tienen pétalos de color blanco el cáliz de color morado soldado hasta la mitad, tiene cinco pétalos cinco sépalos son unisexuales, como es característico de las plantas de la familia de las solanáceas. El fruto es de color verde amarillento en forma de corazón y tiene gran tamaño suspendido en el árbol con un pedúnculo largo, crece en racimos de 5 a 12 frutos, tiene un aspecto un poco rustico cambiando de color de acuerdo a su madurez de un verde oscuro a un leve color amarillo. (Salazar, S. 2015)

Lamentablemente nadie ha continuado estudiando este ejemplar, de tal manera que no existe disponibilidad de información más puntual sobre atributos moleculares que posiblemente contenga con respecto principios medicinales y tolerancia a otras plagas y patógenos, tan solo tenemos la investigación de la ingeniera agrónoma Sonia María del Carmen Salazar Ramos y el testimonio de los campesinos del sector cascarillas que utilizan la fruta como medicina para el ardor de la garganta, de modo que podemos deducir que también posee atributos medicinales que se podrían estudiar, cabe recalcar que como la frontera agrícola cada vez se expande más esta planta silvestre se ha visto amenazada ya que es muy difícil hoy en día encontrarla, por lo que se puede deducir que se encuentra en peligro de extinción por lo que es urgente y necesaria la propagación de esta planta y el estudio riguroso de las facultades que por su rusticidad ofrece.

Tolerancia y resistencia.- En nematología el término resistencia se aplica al efecto de una planta sobre la reproducción del agente causal de la enfermedad es decir la capacidad de la planta a desarrollar mecanismos como la secreción de sustancias tóxicas para limitar el acceso a los órganos de la planta pudiendo o no afectar a la reproducción de los nematodos. La tolerancia es el grado de habilidad que presenta una planta para soportar el daño producido por un nematodo, es más, tiene relación con el menor o mayor vigor de la planta. Fuente de resistencia La resistencia a los nematodos puede ser encontrada en las plantas (especies variedades o accesiones) silvestres como consecuencia de mutaciones para soportar las infecciones naturales del nematodo, así como manejo de genes involucrados en la secreción de sustancias como compuestos fenólicos gossipol y otros. También debe considerarse a la nutrición de las plantas como una fuente de resistencia al ataque de nematodos. (Salazar, S. 2015)

Patrones resistentes.- Desde que el hombre empezó la lucha contra las enfermedades de las plantas se ha observado que algunas plantas permanecen intactas por la enfermedad, en tanto que otras no logra sobrevivir presentándose un problema al no poder determinar un verdadero patrón de comportamiento lo que lleva a ignorar los fenómenos de la resistencia a las enfermedades que se presenta tan variable como la relación susceptible – hospedero. Sin embargo la obtención de

plantas resistentes es una alternativa para el control fitosanitario. Los métodos comunes de lucha como son las aspersiones, tratamiento de semillas, cirugía vegetal y demás son costosos y a veces ineficaces siendo la mayoría de ellos meros experimentos a los que se recurren debido a la falta de métodos de combate de las enfermedades que devastan los cultivos. (Salazar, S. 2015)

Si se pudiera desarrollar variedades de plantas inmunes a las afecciones y con buenas características comerciales se podría dejar de lado los métodos químicos tradicionalmente usados actualmente y que son indispensables para obtener cosechas rentables y sanas, aunque ya se tienen reportes de notables avances en el campo de obtención de plantas resistentes a las enfermedades aún falta mucho por investigar. Como cita Agrios las plantas de cultivo son el resultado de la selección y reproducción de líneas vegetales que han evolucionado de manera natural en una o muchas áreas geográficas durante millones de años. La evolución de las plantas desde sus ancestros primitivos hasta las plantas de cultivo actuales, ha ocurrido muy lentamente y al mismo tiempo producido incontables formas genéticamente diferentes, muchas de estas plantas aún existen en forma silvestre en lugar o lugares originarios o en otras áreas de distribución natural de las mismas. Aunque estas plantas puedan aparecer como vestigios de la evolución que no desempeñan una función en el progreso de la agricultura, su diversidad y supervivencia en presencia de los diferentes patógenos que afectan a este cultivo indica que parten genes de resistencia a dichas patógenos. (Salazar, S. 2015)

El tomate de árbol (*Solanum betaceum Cav.*) y por lo tanto los eco tipos silvestres son nativos de América del Sur. Su centro de origen más probable son las selvas y los bosques de la zona ubicada en la reserva Tucumano en Boliviana al noroeste de Argentina y el sur de Bolivia, debido a su diversidad genética encontrada en el lugar. El norte de Perú y sur de Ecuador son considerados el centro de domesticación de esta planta. Este frutal, en forma natural, se encuentra en Bolivia, Argentina, Venezuela, Ecuador, Perú y Colombia. Comercialmente se lo cultiva en Colombia, Ecuador, Perú y en Nueva Zelanda. Los países donde este frutal ha sido introducido y es cultivado en menor escala son: Estados Unidos, México, países de América Central, Europa, África, Asia, Oceanía y Australia. En Ecuador el tomate

de árbol se cultiva en las provincias de Carchi, Imbabura, Pichincha, Cotopaxi, Tungurahua, Chimborazo, Bolívar, Cañar, Azuay y Loja. (Revelo, J. et al., 2011)

En el Ecuador y en datos porcentuales por superficie las provincias en que mayor parte se cultivan tomate de árbol son: Tungurahua (39.2%), Chimborazo (22,2%), Azuay (14.1%), Pichincha (10.0%) e Imbabura (4.8%). (Lucas, K. et al., 2011)

En nuestro país se desarrolla entre 600-3300 msnm, donde la temperatura óptima está entre 14-20°C, el encharcamiento y vientos fuertes afectan directamente. Hay evidencias que requiere pH de 6-6.5 y precipitaciones de 1500-2000 mm/año. Es un árbol que puede alcanzar 3 m de altura, con hojas cordiformes grandes en crecimiento (30-40 cm de largo) y más pequeñas cuando ha entrado en producción (20 cm). El fruto es de piel lisa y brillante, de color variable (morado, rojo, amarillo, anaranjado, listado), la forma más común es elipsoide puntiaguda, pero puede ser ovoide, esférica, entre otras de acuerdo con el ecotipo o cultivar. (Soria, N. 2009)

El tomate de árbol por sus características organolépticas, nutritivas y para la salud humana, tienen gran aceptación a nivel de mercados nacionales e internacionales, generando como consecuencia una gran demanda de los mismos. Por esta razón la superficie de cultivo de estas especies se ha incrementado en los últimos años a 5.233 hectáreas con rendimientos de 15.236 toneladas métricas, ubicándose entre las especies frutales más rentables de los Andes en el Ecuador. (Moran, L. 2013)

3.2. Taxonomía:

- ❖ Reino: Plantae
- ❖ División: Magnoliophyta
- ❖ Clase: Magnoliopsida
- ❖ Subclase: Asteridae
- ❖ Orden: Solanales
- ❖ Familia: Solanaceae
- ❖ Género: Solanum

- ❖ Especie: *betaceum*
- ❖ Nombre científico: *Solanum betaceum Cav. (Ecotipo: Solanum sp.)*
- ❖ Nombre común: Tomate de árbol. (Ecotipo: Tomatillo)

(Colimba, J. 2011)

3.3. Descripción botánica

3.3.1. Raíz

Sistema radicular superficial, poco profundo y muy ramificado. Con raíz principal cuando las plantas provienen de semilla, raíces secundaria y terciaria de color marfil y de consistencia semileñosa. El tamaño del sistema radicular está en relación con la corpulencia de la planta que debe sostener y puede llegar hasta 40 cm de profundidad y 50 cm en sentido horizontal a partir del tallo. (Revelo, J. et al., 2011)

3.3.2. Tallo

Arbusto de 2 a 3 metros de altura con tallo recto, cilíndrico de 5 a 12 cm de diámetro, las ramificaciones (2 a 3) se inician a 1.2 o 1.8 m. La consistencia del tallo y ramas es semileñosa, frágil, con corazón suberificado (corchoso). La corteza es de color verde grisáceo. (Revelo, J. et al., 2011)

3.3.3. Hojas

Grandes, de 30 a 40 cm de largo y de 15 a 20 cm de ancho en plantas jóvenes, y de 20 a 25 cm de largo y de 10 a 15 cm de ancho en plantas en producción. Forma acorazonada, alternas, sencillas y con el borde entero. El haz es lampiño y de color verde oscuro. El envés es de color verde más claro y presenta pelos cortos y entrelazados. La nervadura principal es prominente. (Revelo, J. et al., 2011)

3.3.4. Flores

Pequeñas (1 cm de diámetro), de color rosado, agrupadas en racimos axilares, supra axilares o en cimas escorpioides y son fragantes. La flor es pentámera y presenta un cono estaminal con 5 estambres de anteras biloculares de color amarillo. Por encima

del cono sobresale el pistilo. La corola presenta 5 pétalos largos de color rosado. En cada racimo se presentan hasta 40 flores, de las cuales de tres a seis logran cuajar formando los frutos y llegan a la madurez fisiológica. La polinización es autogámica, en mayor parte, y también alogámica por medio de las abejas. (Revelo, J. et al., 2011)

3.3.5. Frutos

Baya ovalada pequeña, bilocular, carnosa, puntiaguda o redonda en el extremo. La cáscara es delgada y tersa. El color del fruto depende de la variedad: amarillo, anaranjado, rojo amarillento o rojo opaco. La pulpa es jugosa, agridulce y de color anaranjado claro, el mesocarpio es de color variable del amarillo al anaranjado o al anaranjado rosáceo, ligeramente firme, suave y jugosa, con un sabor agridulce. En el centro de la fruta, rodeadas de pulpa más suave que la capa exterior, se encuentran entre 200 y 400 pequeñas semillas comestibles, de forma plana y circular. (Revelo, J. et al., 2011)

3.3.6. Semilla

Son dicotiledóneas, semiplanas, redondas, de 2.0 a 4.0 mm de diámetro y de color blanco amarillento. Se encuentran en el interior del fruto rodeadas por la pulpa del fruto. El número de semillas por fruto difiere entre variedades en un rango de 186 a 343. Constituyen la principal forma de propagación. (Revelo, J. et al., 2011)

3.4. Variedades Comerciales

En Ecuador no existe una clasificación clara de los genotipos de tomate de árbol cultivados, lo que ha dado lugar a confusiones en su denominación. También se puede señalar que no existen variedades propiamente dichas, con excepción del híbrido Mora introducido desde Nueva Zelandia, obtenido del cruzamiento entre los tomates “Rojo Puntón” y el “Negro Silvestre Lojano”, nativos de Ecuador. Este híbrido no produce semilla viable y solamente se propaga por estaca, es decir, vegetativamente. Es importante conocer que las plantas del híbrido Mora de Nueva Zelandia que fueron plantadas dentro de un huerto del ecotipo Rojo Puntón, su polen fecundó al híbrido Mora neozelandés produciendo frutos con semilla viable,

originándose el denominado tomate Neozelandés ecuatoriano, que sería el que se cultiva actualmente como tomate mora, al considerar que en los viveros se venden plántulas de este material. También existen híbridos de Neozelandés por cultivares Redondo y Amarillo. Con el propósito de tener una definición comercial, se puede decir que existen variedades de pulpa amarilla y variedades de pulpa morada o púrpura. A su vez, en estos grupos se definen a las variedades tomando en consideración el color de la cáscara, la forma del fruto y el color de la pulpa. (Revelo, J. et al., 2011)

En el mercado nacional se reconocen como las variedades más comerciales tipo mora, común y redondo, todos ellos establecidos en un área de 5000 hectáreas con rendimientos anuales que oscilan de 60 a 80 toneladas por hectárea. (MAG, Ministerio de Agricultura y Ganadería 2001, EC)

3.5. Exigencia del cultivo

3.5.1. Condiciones agroecológicas

Las características ecológicas para el tomate de árbol corresponden a las zonas de vida bosque húmedo pre montano, bosque seco pre montano, bosque seco montano y bosque húmedo montano bajo. Esta planta en nuestro país ha sido encontrada en un amplio rango de climas en estado silvestre debido a su gran adaptabilidad a los climas andinos, desde zonas cálidas hasta zonas muy frías. Pero la zona óptima se encuentra entre los 1800 y 2800 msnm., en formaciones ecológicas de bosque húmedo montano bajo (bhMB) y bosque seco montano bajo (bsMB). (Revelo, J. et al., 2011)

En altitudes inferiores a los 1000 m.s.n.m. la fructificación es menor porque durante la noche la temperatura no es lo suficientemente baja. La temperatura ideal para el cultivo está comprendida entre 13 a 24 °C. A temperaturas menores de 4 °C se destruye completamente el follaje, ya que es muy vulnerable a las bajas temperaturas. (Amaya, J, 2006)

Requiere un ambiente sombreado o de alta nubosidad con rangos óptimos de humedad del 70% al 80%. (MAG, Ministerio de Agricultura y Ganadería 2001, EC)

El tomate de árbol no tolera vientos fuertes, ya que se produce la caída de las flores, rotura de las ramas y destrucción de las hojas. (Lebn, J. 1996)

Los requerimientos hídricos son de 1500 a 2000 mm de precipitación bien distribuida en el año. Los veranos secos y el exceso de humedad reducen los rendimientos, el cuaje de las flores y la calidad de fruto. (Sánchez, et al., 1994)

3.5.2. Requerimientos edáficos

La planta del tomate de árbol se adapta muy bien a todo tipo de suelo, sin embargo los suelos ideales son los ricos en materia orgánica, sueltos, con buen drenaje y aireación. (MAG, Ministerio de Agricultura y Ganadería 2001, EC)

Prefiere suelos de textura franco a franco arenoso, con suelos ligeramente ácidos. No tolera el encharcamiento. Es aconsejable utilizar los suelos entre ligeramente inclinados e inclinados (no mayor a 40%). El pH aconsejable varía entre 5.4 a 7.0. El óptimo se considera de 6.5 a 7.0. (Amaya, J. 2006)

3.5.3. Propagación

En el país se practican los dos tipos de propagación, la sexual, que consiste en utilizar semillas de frutos específicamente seleccionados, para el establecimiento de semilleros; y el método asexual, mediante estacas, chupones, acodos o injertos. (Amaya, J. 2006)

3.5.4. Propagación sexual

Para la extracción de la semilla, se cortan los frutos y se separa la pulpa de las semillas, con la ayuda de un cedazo de malla fina. Posteriormente, se procede a lavarlas con agua y se separan las semillas que floten, ya que éstas no sirven para el semillero. (CORPOICA, Corporación Colombiana de investigación, 2001. CO)

La semilla utilizada en la propagación sexual, se obtiene de frutos seleccionados de árboles sanos, vigorosos, de alta producción, con frutos maduros y en buen estado. (Amaya, J. 2006)

Una vez lavadas, se desinfecta sumergiéndolas en una solución de vitavax y se secan a la sombra, durante uno a dos días sobre papel periódico. Para el semillero, debemos desinfectar el sustrato con el fin de evitar enfermedades, mediante la solarización, para lo cual mezclamos tres partes de tierra negra, con una de gallinaza y arena, lo humedecemos y lo tapamos con un plástico transparente durante 45 días. (CORPOICA, Corporación Colombiana de investigación, 2001. CO)

Opcionalmente, se pueden colocar las semillas secas en un congelador durante 24 horas para acelerar la germinación y romper la dormancia. Después de esto el sustrato está listo para ser utilizado en semilleros, en fundas plásticas o en pilones. El método más utilizado es el de semilleros, en el que la semilla se siembra en hileras a chorro continuo con una distancia de diez centímetros entre hileras, o a una distancia de tres centímetros entre cada semilla, luego se cubren con tierra suelta. (MAG, Ministerio de Agricultura y Ganadería 1996, EC)

Se pueden utilizar diferentes coberturas de protección, siendo la cobertura de paja la más beneficiosa, pues ayuda a conservar la humedad. La germinación de las semillas ocurre de los 15 a 22 días, y cuando las plántulas tienen entre 10 y 15 cm de altura se trasplantan. (Amaya, J. 2006)

3.5.5. Propagación asexual

Es un método que reproduce clones. Esa propagación implica la división auténtica de las células, en la cual, hay una duplicación íntegra del sistema cromosómico y del citoplasma asociadas de la célula progenitora, para formar dos células hijas. En consecuencia, las plantas propagadas vegetativamente reproducen, por medio de la réplica del DNA, toda la información genética de la planta progenitora. Por esto, las características específicas de una planta dada son perpetuadas en la propagación de un clon. Este método puede producirse naturalmente por medio de bulbos, rizomas, tubérculos, estolones y macollos. La propagación asexual artificial puede ser por acodos, estacas, injertos y micro propagación de tejidos. (Huanca, W. 2010)

3.6. La Biotecnología

Es un área multidisciplinaria, que emplea la biología, química y procesos, con gran uso en agricultura, farmacia, ciencia de los alimentos, ciencias forestales y medicina. Probablemente el primero que usó este término fue el ingeniero húngaro Karl Ereky, en 1919. Una definición de biotecnología aceptada internacionalmente es la siguiente: La biotecnología se refiere a toda aplicación tecnológica que utilice sistemas biológicos y organismos vivos o sus derivados para la creación o modificación de productos o procesos para usos específicos (Convention on Biological Diversity, Article 2. Use of Terms, United Nations. 1992) (CB. Udec.)

Las aplicaciones de la biotecnología son numerosas y se suelen clasificar de la siguiente manera.

3.6.1. Biotecnología roja

Se aplica a la utilización de biotecnología en procesos médicos. Algunos ejemplos son el diseño de organismos para producir antibióticos, el desarrollo de vacunas y nuevos fármacos, los diagnósticos moleculares, las terapias regenerativas y el desarrollo de la ingeniería genética para curar enfermedades a través de la terapia génica.

3.6.2. Biotecnología blanca

Conocida como biotecnología industrial, es aquella aplicada a procesos industriales. Un ejemplo de ello es el diseño de microorganismos para producir un producto químico o el uso de enzimas como catalizadores industriales, ya sea para producir productos químicos valiosos o destruir contaminantes químicos peligrosos (por ejemplo utilizando oxidorreductasas). También se aplica a los usos de la biotecnología en la industria textil, en la creación de nuevos materiales, como plásticos biodegradables y en la producción de biocombustibles. Su principal objetivo es la creación de productos fácilmente degradables, que consuman menos energía y generen menos desechos durante su producción. La biotecnología blanca tiende a consumir menos recursos que los procesos tradicionales utilizados para producir bienes industriales.

3.6.3. Biotecnología verde

Es la biotecnología aplicada a procesos agrícolas. Un ejemplo de ello es el diseño de plantas transgénicas capaces de crecer en condiciones ambientales desfavorables o plantas resistentes a plagas y enfermedades. Se espera que la biotecnología verde produzca soluciones más amigables con el medio ambiente que los métodos tradicionales de la agricultura industrial. Un ejemplo de esto es la ingeniería genética en plantas para expresar plaguicidas, con lo que se elimina la necesidad de la aplicación externa de los mismos, como es el caso del maíz Bt. Si los productos de la biotecnología verde como éste son más respetuosos con el medio ambiente o no, es un tema de debate.

3.6.4. Biotecnología azul

También llamada biotecnología marina, es un término utilizado para describir las aplicaciones de la biotecnología con respecto a los ambientes marinos y acuáticos (ecosistemas hídricos). Aún en una fase temprana de desarrollo sus aplicaciones son prometedoras para la acuicultura, cuidados sanitarios, cosmética y productos alimentarios así como la preservación y mantenimiento de ecosistemas naturales acuíferos y se relaciona con la última de toda la biotecnología gris que se enfoca en la recuperación del equilibrio ecológico.

3.6.5. La Biotecnología agrícola

Considerando una descripción actual de las áreas de aplicación de esta amplia multidisciplina, bajo un “código de colores”, la biotecnología verde equivalente a la “agrícola”, se relaciona con la producción agropecuaria sustentable con fines alimentarios, industriales y ambientales. Cada vez más se integran estrategias con enfoque productivo y de sustentabilidad en la producción de bienes y servicios a través de la aplicación de procesos biológicos. Nominalmente, la biotecnología ‘verde’ incluye: gen para la biosíntesis, procesamiento y almacenamiento de bienes agrícolas y pecuarios. Biofertilizantes y agrobioquímicos (no sintéticos), para control de plagas y enfermedades. Técnicas para registro, monitoreo y manejo de vida silvestre y conservación de ecosistemas. Productos auxiliares para la

reproducción, buena nutrición, mantenimiento de la salud, control de enfermedades, clonación y modificación genética de cultivos, ganado y mascotas. Cultivo de tejidos vegetales y micro propagación de plantas. Modelos vegetales para bío remediación y gestión ambiental. Generación directa (algas) o indirecta (almidón, aceites) de biocombustibles. Búsqueda y mejoramiento de nuevas fuentes de (bío) materiales y energías renovables de origen vegetal, animal o microbiano para construcción, acabados e instrumentos. (Agrobío México, s.f.)

3.7. Micro propagación

El cultivo in vitro permite el crecimiento y desarrollo de material vegetal en recipientes que lo separan del ambiente exterior y lo mantienen en condiciones controladas y asépticas. Entre las diversas técnicas de cultivo in vitro, la micro propagación consiste en la producción clonal de vegetales a partir, generalmente, de ápices o espantos nodales de una planta madre. La gran producción de nuevas plantas se ve favorecida gracias al rápido crecimiento del material vegetal in vitro y a la proliferación de tallos durante los subcultivos. (Damasco, L. 2013)

En cuanto a solanáceas micro propagadas in vitro ya se han realizado experimentos con brotes de papa (*Solanum tuberosum*) por la doctora en ciencias biológicas y genéticas María Antonia Malajovich de nacionalidad argentina. En la universidad de los Andes en Venezuela se realizó experimentos in vitro con tomatillo (*Physalis ixocarpá L.*) de origen mexicano. En la Universidad de Concepción en Chile también se han realizado propagaciones con ayuda de la biotecnología en una especie florícola (*Vestia foetida*) de la familia de las solanáceas llamadas chuplín o palqui en Chile, además de las propagaciones realizadas en la Facultad de Ciencias Agropecuarias y del Ambiente de la Universidad Estatal de Bolívar con tomate de árbol comercial (*Solanum betaceum Cav.*) por parte del Ing. Agrónomo Victor Hugo Cortez.

3.7.1. Medios de cultivo

Una parte importante del cultivo in vitro son los Medios de Cultivo ya que en ellos se encuentran las sustancias necesarias para el crecimiento y desarrollo de los

tejidos vegetales. Un medio de cultivo es una solución acuosa en donde se encuentran disueltas sales minerales que aportan los elementos esenciales Macronutrientes (N, P, K, S, Ca y Mg) y Micronutrientes (Fe, B, Mn, Zn, Cu, Mo, y Co). Normalmente es imprescindible una fuente de carbono, generalmente la sacarosa, debido a la escasa actividad fotosintética de los tejidos in vitro. Además, el medio puede ser enriquecido con Aminoácidos, Vitaminas y Reguladores del Crecimiento. Los medios de cultivo se preparan a partir de soluciones concentradas 10 o 100 veces (Soluciones Madre o Stock). En la solución madre se pueden mezclar varias sales minerales siempre que no se produzcan problemas de precipitación. Algunos elementos, como el Fe, se utilizan en forma de quelatos para mantener su disponibilidad durante el cultivo. Los medios de cultivo se pueden utilizar de forma líquida o con un agente gelificante como el agar. (Damasco, L. 2013)

3.7.2. Sales minerales MS (Murashige y Skoog, 1962) en (mg/l)

- ❖ $(\text{NH}_4)\text{NO}_3$ 1.650
- ❖ KNO_3 1.900
- ❖ $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.440
- ❖ $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.370
- ❖ KH_2PO_4 0.170
- ❖ $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.0278
- ❖ $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.0372
- ❖ $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.0169
- ❖ $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.0086
- ❖ H_3BO_3 0.0062
- ❖ KI 0.00083
- ❖ $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.00025
- ❖ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.000025

- ❖ $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.000025
- ❖ Mioinositol 0.100
- ❖ Tiamina HCl 0.0001
- ❖ Acido nicotínico 0.0005
- ❖ Piridoxina HCl 0.0005
- ❖ Glicina 0.002

3.7.3. Micronutrientes en mg/lt

- ❖ $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 27,8
- ❖ Na_2EDTA 37,3
- ❖ H_3BO_3 6,2
- ❖ $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 22,3
- ❖ $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 8,6
- ❖ $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,25
- ❖ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0,025
- ❖ $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0,025
- ❖ KI 0,83

3.7.4. Vitaminas en mg/lt

- ❖ myo- Inositol 100
- ❖ Tiamina HCl 0,1
- ❖ Acido nicotínico 0,5
- ❖ Glicina 2, 0
- ❖ Piridoxina HCl 0,5

3.7.5. Gelificante en g/lt

- ❖ Agar 7.5

3.7.6. Fuente de energía en g/l

- ❖ Azúcar 30

3.7.7. Elaboración de soluciones madre del medio de cultivo murashige y skoog

Para la realización del medio de cultivo “MS” se elaboran las siguientes:

- ❖ Stock de macronutrientes
- ❖ Stock de micronutrientes
- ❖ Stock de kelatos de Fe
- ❖ Soluciones Stock de vitaminas
- ❖ Soluciones Stock de Reguladores

(Damasco, L. 2013)

3.7.8. Fitoreguladores

Son las hormonas vegetales que se encargan de regular cambios y promover principios fisiológicos, propios de las plantas, (inductores o inhibidores) las cuales actúan en muy bajas concentraciones. Se dividen en Auxinas, Ácido abscísico, Citoquininas, Etileno y Giberelinas, en la presente investigación se utilizarán la Bencil adenina y la Kinetina dos de las tres citoquininas de la cadena lateral amino 6 de naturaleza aromática. (Gracia, J. s.f.)

3.7.9. Citoquininas

Hormonas vegetales que promueven la división y diferenciación celular. En 1955, Miller y Skoog consiguieron preparar por tratamiento térmico de ADN un compuesto, el 6-furfurilamino purina, que promovía la división celular. Denominaron a esa sustancia quinentina y llamaron a los reguladores que se incluían dentro de este grupo citocininas (citoquininas), debido a su aparente implicación en los procesos de citocinesis, o división celular. La quinentina es una citocinina artificial que probablemente no existe en plantas de modo natural, tiene una estructura relativamente simple. En 1964, Letham y sus colaboradores aislaron una

citoquinina natural a partir de semillas de maíz (*Zea mays*), a la que denominaron zeatina, la cual es la citoquinina natural más activa que se conoce. (Pérez, S. 2006)

3.8. Plagas y enfermedades más importantes

3.8.1. Nematodos

Los nematodos pertenecen al reino animal, son microscópicos, anillados, semejantes a una lombriz, están distribuidos en casi todo el mundo y parasitan tanto a animales como a plantas. (Agrios, G., 2009)

Los Nematodos es una plaga muy importante en el cultivo de tomate de árbol, son microscópicos, de unos 0,2 milímetros. Hay varios géneros de nematodos: (*Meloidogyne spp.*, *Pratylenchus spp.*, *Ditylenchus spp.*) (Cantuña N. 2013)

Dañan las raíces de las plantas. Se introducen en ellas y absorben sus jugos. No hay suelo que no tenga Nematodos, aunque para producir daños su número tiene que ser elevado y las especies de plantas tienen que ser sensibles a ellos. Como son microscópicos, para saber si un suelo tiene niveles altos de Nematodos se tendría que tomar una muestra de tierra y raíces y analizar en laboratorio especializado. Proliferan mejor es en suelos arenosos, con calor y riego abundante. Son muy sensibles a la sequía o a la falta de cultivo. Requieren para vivir lugares muy húmedos. Un suelo sin vegetación o sin riego un año o más, reduciría mucho la población. Los síntomas se confunden con varias cosas: exceso de agua, sequía, carencia de nutrientes, etc. Cuando se trata del género (*Meloydogine spp*) (el más frecuente), si se extraen las raíces del suelo se observan: bultos en dichas raíces llamados "batatillas", "porrillas" o "agallas". Existen varios esfuerzos para sesgar los ataques de nematodos utilizando porta injertos con plantas como Palo Blanco (*Solanum auriculatum*), el Cajacu (*Solanum hispidum*) y el Palo Bobo (*Nicotiana glauca Gram.*) más conocida en nuestro país como sachá tabaco, pero en este último se ha presentado problemas de acidez en el fruto, lo que ha generado un rechazo de los mercados. (Camacho, V. 2011)

Cuando los nematodos llegan a infestar un suelo es prácticamente imposible eliminarlos. Pueden persistir en el suelo, en varios casos por más de 20 años en ausencia de su hospedero. Para este fin, algunos géneros de nematodos han desarrollado estructuras de resistencia como el quiste y la matriz en cuyo interior se encuentran los huevos protegidos de condiciones ambientales adversas. (Cepeda, M. 2009)

Los nematodos parásitos de plantas reducen la producción agrícola mundial entre un 12% y un 20%. (FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura 2013)

El tomate de árbol silvestre al ser utilizado como porta injerto no alterara el sabor del fruto obtenido ya que en si es un tomate de árbol y es considerada en el sector rural como planta medicinal. Los nematodos al alimentarse dañan las raíces afectando la función fisiológica de nutrición de la planta lo que hace que las plantas luzcan raquílicas, cloróticas, con tendencia a marchitarse en días calurosos y se distribuyen en forma de parches en el campo.

Nematodos agalladores (*Meloidogyne spp.*) Generalmente pasan el invierno en suelo en forma de huevos. En primavera conforme la temperatura del suelo se incrementa, los juveniles de segundo estado, eclosionan, emigran a través del suelo y penetran en las raíces de las plantas hospedadoras, donde establecen sitios de alimentación. Durante el crecimiento, los juveniles van engrosando y mudando hasta convertirse en hembras adultas o machos. Las hembras son redondeadas e inmóviles, los machos filiformes y generalmente abandonan la raíz pues no se alimentan. Las hembras producen hasta 3000 huevos envueltos en una masa gelatinosa. Generalmente los nematodos agalladores completan su ciclo en menos de un mes dependiendo de la temperatura del suelo y por tanto puede tener varias generaciones durante un cultivo. (Duncan, L. 1991)

El nematodo agallador de raíces es una plaga de gran importancia económica en todo el mundo, especialmente en países tropicales y subtropicales.

Se reportan pérdidas de la producción mundial por causa de este nematodos en aproximadamente 115 mil millones de dólares anual. En Ecuador se encuentra presente en todas las regiones, aunque las incidencias más altas están en las zonas calientes, donde tienen ciclos biológicos de 21-30 días e índices de reproducción sobre los 1000 huevos. Los cultivos con mayores pérdidas económicas son las hortalizas, leguminosas y frutales, por lo general los productores no detectan el problema antes de la siembra y cuando lo identifican en su afán de salvar parte de la producción se ven obligados a utilizar nematicidas, productos peligrosos y de alto costo. El Ecuador estima pérdidas del 90% en rendimiento de cultivo en tomate de árbol a causa de (*Meloidogyne incognita*). (Revelo, J. 2003)

A nivel mundial, en cambio, se han registrado pérdidas anuales de 100 billones de euros en alrededor de 3000 plantas hospederas para este nematodo. El género *Meloidogyne* pertenece a la familia Heteroderidae, de la clase Chromatorea del phylum Nematoda. Las especies dentro de este grupo son endoparásitos sedentarios obligados distribuidos por todo el mundo los cuales obtienen su alimento del citoplasma de las células de la planta hospedera. El ataque del nematodo se refleja en la formación de nudos en las raíces que penetran, ocasionando que la planta no crezca, se debilite, deshidrate e incluso sea susceptible a otros patógenos como (*Phytophthora infestans*) y (*Fusarium spp.*). (Cantuña N. 2013)

Las especies de (*Meloidogyne spp.*) causan pérdidas cuantiosas alrededor del mundo (100 billones de euros al año) en diversos cultivos incluidos los solanáceos. (Abad et al., 2003)

Su morfología es a manera de gusanos cilíndricos de aproximadamente 1 mm de largo difícilmente apreciables por el ojo humano. Poseen además dos estructuras especializadas en la parasitosis: estiletos, ubicados en el polo anterior del nematodo que le permiten penetrar las pared y membrana celular de las células vegetales y glándulas secretoras esofágicas, que proveen de sustancias bioquímicas tanto para la penetración y migración del nematodo como para el desarrollo de las

nodulaciones producto de las alteraciones metabólicas dadas por sus secreciones. (Zárate, S. 2008)

Las enfermedades más comunes que afectan al tomate de árbol son: Manchas foliares causadas por (*Alternaria sp.*) y (*Cercospora sp.*) Antracnosis de la fruta (*Colletotrichum gloeosporoides*), Oidio (*Oidium spp*), (*Pythium sp.*) y (*Phytophthora sp.*) virus (virus de la mancha anular del tomate que atacan ramas, hojas y frutos. Las plagas más importantes son áfidos (*Mizus sp.*), chinches (*Leptoglossus zanatus*) y nematodos de la raíz (*Meloidogyne spp*). (Salazar, S. 2015)

En el caso de ataque severo de nematodos las pérdidas que ocasiona se estiman en 70%, especialmente por la reducción de la vida útil de la planta. (INIAP. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias DICYT, Agencia Iberoamericana para la difusión de la ciencia y la tecnología, 2010)

3.8.2. Síntomas generales de los nematodos

Las hojas toman un color verde pálido o amarillo que se marchita cuando el clima es cálido (puede confundirse con falta de nutrientes). Plantas raquíticas, con poco desarrollo, descoloridas. Esto aumenta su susceptibilidad al frío, a hongos y bacterias. Los vegetales afectados pueden llegar a morir por la acción directa del Nematodo o por los parásitos de debilidad. Debilitamiento progresivo de la planta, (marchitamiento). Suelen manifestarse por rodales o líneas de cultivo. (Soria, N. 2009)

3.8.3. Control

En agricultura comercial, intensiva, hay tres formas.- Hacer una desinfección con fumigantes tóxicos, desinfección con otros productos no fumigantes y de aplicación más sencilla y la solarización. Se deberán utilizar productos antagónicos como el bioway u otros, alternado con la aplicación de nematicidas ecológicos como el nematrón a razón de 4 litros/ha, mediante 2 a aplicaciones consecutivas hasta controlar las poblaciones. (Soria, N. 2009)

3.8.4. Control general de plagas y enfermedades

Para el control de las plagas y enfermedades más generales se deben alternar productos de origen ecológico de acuerdo con las recomendaciones y dosis del fabricante. A continuación se citan algunas opciones de dichos productos que están dando interesantes resultados en el cultivo de tomate de árbol. Fungicidas: Fungbacter Krypthon ExcellentCobre TNMil-agroOidio mil Insecticidas: PestoneNeem knock. (Soria, N. 2009)

3.8.5. Labores culturales

Para el control de malezas es preferible hacerlo en forma manual, en el caso del riego se puede incluir sistemas de goteo para hacer más eficiente, el manejo del agua. Las podas y demás labores culturales pueden corresponderle a la forma tradicional que se lo ha venido haciendo en el cultivo. El cultivo de especies comerciales es más productivo durante los 3 primeros años, alcanza rendimientos entre 40.000-50.000 kg/ha/año, el precio al interior del país varía entre U.S. \$ 0.2-0.7/kg, pero a nivel externo dicho precio se incrementa en vanas veces. A continuación se presenta un resumen de nombres comunes de la especie y la distribución en el área andina. Nombre común: "Tomate de árbol", "tamarillo", "tomate de agua", "tomate cimarrón", "tomate chimango", "tomate de Lima", "tomate del monte", "tomate de palo", "tomate de Castilla", "tomate de la paz", "tomate del serrano", "tomate silvestre". (Soria, N. 2009)

IV. MARCO METODOLÓGICO.

4.1. Materiales

4.1.1. Ubicación de la investigación

La presente investigación se realizó en el laboratorio de biotecnología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias Recursos Naturales y del Ambiente, en la granja Aguacoto II en la parroquia Veintimilla del cantón Guaranda, provincia de Bolívar.

4.1.2. Condiciones geográficas y climáticas

Ubicación geo referencial del laboratorio de biotecnología de la facultad de ciencias agropecuarias y del ambiente de la UEB.

Características	Laboratorio de biotecnología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias Recursos Naturales y del Ambiente de la UEB.
Altitud	2668 msnm.
Latitud	1° 36' 55" S
Longitud	78° 59' 53" O
Temperatura media	13.5 °C
Heliofania	780 h/año
Precipitación promedio anual	845 mm
Zona de vida	(bs-MB)

(PDOT BOLÍVAR 2012. Plan de desarrollo y ordenamiento territorial)

Zona de vida de acuerdo con el sistema de clasificación de zonas de vida de Leslie Holdridge, 1971.

4.1.3. Material experimental

- ❖ Brotes de tomate de árbol silvestre (*Solanum sp.*)
- ❖ “SIMBOLO.- Es”

4.1.4. Materiales de campo

- ❖ Cámara digital
- ❖ Libro de campo
- ❖ Esferos
- ❖ Tijeras de poda
- ❖ Machete
- ❖ Botas de caucho
- ❖ Jabón líquido

4.1.5. Material de laboratorio

- ❖ Cabina de flujo laminar horizontal
- ❖ Refrigerador domestico
- ❖ Autoclave
- ❖ Vidriería
- ❖ Balanza
- ❖ Horno microondas
- ❖ Agitador magnético
- ❖ Soluciones stock
- ❖ Medios de proliferación
- ❖ Magentas
- ❖ Agua
- ❖ Pañuelos

- ❖ Franelas
- ❖ Bandeja de plástico
- ❖ Estante
- ❖ Frascos
- ❖ Gorro
- ❖ Mascarilla
- ❖ Guantes
- ❖ Gafas
- ❖ Pinzas
- ❖ Bisturí
- ❖ Mechero
- ❖ Alcohol 70 °
- ❖ Alcohol de 90 °
- ❖ Libreta
- ❖ Esfero
- ❖ Gel desinfectante
- ❖ Jabón líquido
- ❖ Medio de proliferación
- ❖ Regla

4.1.6. Material de oficina

- ❖ Disco extraíble
- ❖ Flash memory
- ❖ Hojas de papel bond A4
- ❖ Esfero

4.1.7. Equipos de oficina

- ❖ Computadora
- ❖ Escritorio
- ❖ Impresora

4.2. Métodos

4.2.1. Factores en estudio

4.2.1.1. Fitoreguladores: “FA”

- ❖ Bencil adenina.- BA
- ❖ Kinetina.- KN

4.2.1.2. Dosis: “FB”

- ❖ 10 mg/lt
- ❖ 30 mg/lt
- ❖ 50 mg/lt

4.2.2. Tratamientos

En (DCA)

Tratm. N°	Código	Descripción
T1	A1B1	Es + BA + 10 mg/lt
T2	A1B2	Es + BA + 30 mg/lt
T3	A1B3	Es + BA + 50 mg/lt
T4	A2B1	Es + KN + 10 mg/lt
T5	A2B2	Es + KN + 30 mg/lt
T6	A2B3	Es + KN + 50 mg/lt

4.2.3. Tipo de diseño (DCA)

FUENTES DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	CME*
Tratamientos (t -1) 5		
Factor A: Fitoreguladores (2-1)	1	$\int^2 e + 12 \theta^2 \text{FA}$
Factor B: Dosis de Fito.R. (3-1)	2	$\int^2 e + 6 \theta^2 \text{FB}$
FA x FB: (A-1) (B-1)	2	$\int^2 e + 3 \theta^2 \text{FA x FB}$
Error Experimental t (r-1)	12	$\int^2 e$
Total (t x r) - 1	17	

Se evaluó tukey al 5 %, tendencias polinomiales para el FB, Interacción A x B, Correlación y regresión simple.

4.2.4. Datos Tomados

4.2.4.1. Numero de brotes por explante

El número de brotes por explante (NBE) se tomó por observación directa a partir de los 30, 45 y 60 días del último transmagentado a sus respectivos medios de proliferación con Fito reguladores y en dosis respectivas en cada magenta, se consideró un brote al presentar éste al menos dos hojas.

4.2.4.2. Número de hojas por brote

La variable número de hojas por brote (NHB) se tomó por observación directa en la magenta a los 30, 45 y 60 días del transmagentado a sus respectivos medios de proliferación con Fito reguladores y dosis respectivas, se consideraron hojas desarrolladas todas menos la primera y la última, las cuales estuvieron en desarrollo.

4.2.4.3. Altura de brotes

En altura de brotes (AB) se tomó con la ayuda de una regla por la parte exterior de la magenta desde la parte coronal superficial de la base del brote hasta su ápice a los 30, 45 y 60 días del transmagentado a sus respectivos medios de proliferación con Fito reguladores y con sus respectivas dosis.

4.2.4.4. Volumen de raíz

Para el volumen de raíz (VR) se determinó separando la parte aérea de la parte radical del brote en la cámara de flujo laminar y con base en el principio de Arquímedes, se utilizó una balanza de precisión y un vaso de precipitados con agua, se procedió a sumergir las raíces en el agua, sin tocar las paredes del vaso, se registró un aumento de peso en el sistema (medido en g) que equivale al volumen de la raíz en cm^3 durante 60 días posteriores al transmagentado definitivo a sus respectivos medios de proliferación con Fito reguladores y sus respectivas dosis.

4.2.4.5. Número de magentas contaminados

El número de magentas contaminadas (NMC), se evaluó por observación directa la presencia de agentes patógenos causados por hongos durante los 60 días que es el tiempo que transcurrió desde el transmagentado a sus respectivos medios de proliferación. Considerando que una magenta está contaminada cuando en el medio de cultivo se observa la presencia de manchas (esporas) blanquecinas o grises, las cuales con el transcurso del tiempo se diseminan por toda la magenta formando una estructura algodonosa.

4.2.5. Tipo de análisis

La presente investigación fue de campo, explicativa, descriptiva y experimental, la misma que nos proporcionó datos reales con mayor precisión debido a que se obtuvo más grados de libertad para el error o varianza en el laboratorio de biotecnología de la UEB, esto es en el sector Laguacoto, cantón Guaranda, provincia Bolívar.

4.3. Manejo del ensayo

En la presente investigación se procedió de la siguiente manera.

- A.** Se utilizó los brotes de tomate de árbol silvestre provenientes del sector Cascarillas, de la parroquia San Pablo de Atenas, cantón San Miguel, provincia Bolívar, que se encuentra a una altura de 2.750 msnm.
- B.** En primera instancia se procedió a la preparación del medio de cultivo con agar, el mismo que fue de proliferación, a fin de estimular el desarrollo de los brotes en cada explante en el menor tiempo posible capaz de manejar en el siguiente ensayo.
- C.** Se tomaron los brotes de la colección de plantas silvestres del laboratorio de biotecnología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente de la “UEB” y se procedió esterilizarlos para colocarlos en un medio de proliferación para su desarrollo, trasladándose a un lugar aséptico e iluminado con luz artificial “área de incubación” para estimular sus procesos metabólicos normales.
- D.** Cuando alcanzaron una altura de 3cm en la magenta se procedió a cortar con la ayuda de un bisturí los nuevos brotes y se procedió al transmagentado con el fin de multiplicar más plantas a partir de estas, luego se colocaron los brotes obtenidos de los explantes en magentas con otro medio de proliferación.
- E.** Una vez que se obtuvo los nuevos brotes en la cantidad necesaria para cumplir con el ensayo, se transmagentó nuevamente a los medios de proliferación en magentas de vidrio que contenían los Fito reguladores y dosificaciones respectivas en donde se tomaron los primeros datos y se colocó un brote por magenta.
- F.** A los 30, 45 y 60 días del último transmagentado se tomaron los datos de todas las variables propuestas en la investigación, los mismos que fueron evaluados y analizados respectivamente de acuerdo al análisis estadístico planteado.

G. La tabulación de datos se analizaron estadísticamente con el programa statistix 9.0 para la comprobación de las hipótesis ($H_a - H_o$) mismos resultados que nos permitieron elaborar las conclusiones y recomendaciones válidas para concluir esta investigación.

4.4. Plan de procesamiento y análisis

Los datos obtenidos en el laboratorio de biotecnología fueron procesados, llevados a partir de un modelo de diseño experimental completamente aleatorizado (DCA), lo que permitió graficarlos con ayuda del programa estadístico “statistix 9.0” y se realizó el respectivo análisis cualitativo y cuantitativo de cada uno de los ítems estudiados generando conclusiones y recomendaciones válidas para la propagación in vitro del tomate de árbol silvestre eco tipo originario del sector Cascarillas de la parroquia San Pablo de Atenas, cantón San Miguel provincia Bolívar.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Variables agronómicas

Cuadro N° 1. Resultados de la Prueba de Tukey para comparar los promedios del FA (Fitorreguladores) en las siguientes variables: Número de brotes por explante (NBE); Número de hojas por brote (NHB); Altura de brotes (AB); Volumen de raíz (VR) y Número de magentas contaminadas (NMC). Laguacoto 2017.

INDICADORES	FITORREGULADORES		MEDIA GENERAL	CV %
	A1 Bencil Adenina (BA)	A2 Kinetina (KN)		
Número de brotes por explante (NBE) **	2 A	1 B	2	19.50
Número de hojas por brote (NHB) *	3 A	2 A	2	15.75
Altura de brotes (AB) **	2.1 A	1.0 B	1.55	17.22
Volumen de raíz (VR) **	0.4 A	0.3 B	0.32	21.15
Número de magentas contaminadas (NMC) ns	1 A	1 A	1	27.12

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

NS = No significativo

* = Significativo al 5 %

** = Altamente significativo al 1 %

5.2. Factor A (fitorreguladores)

La respuesta de la micro propagación in vitro de las plantas de tomate en cuanto a las variables número de brotes por explante (NBE); altura de Brotes (AB) y volumen de raíz (VR) fueron altamente significativos, en cuanto al número de hojas por brote (NHB) fue significativo; Sin embargo en la variable número de magentas contaminadas (NMC); se obtuvo un resultado no significativo (Cuadro N° 1).

En la variable **número de brotes por explante (NBE)**, se registró un promedio de 2 brotes con la inducción de Bencil adenina (BA) y 1 brote con la inducción de Kinetina (KN); con una clara diferencia de 1 brote determinadas por la naturaleza de cada fitohormona. (Cuadro N° 1 y Gráfico N° 1).

Dichos resultados se debieron probablemente a que la Kinetina tiene una estructura relativamente simple en comparación con Benciladenina que posee una estructura que se deriva de la adenina la misma que está relacionada principalmente en los procesos de división celular. (Han. 2001)

Está comprobado que se puede lograr una alta frecuencia y diferenciación de brotes con el uso de Bencil adenina (<http://eprints.uanl.mx/330/1/1080110323.html>).

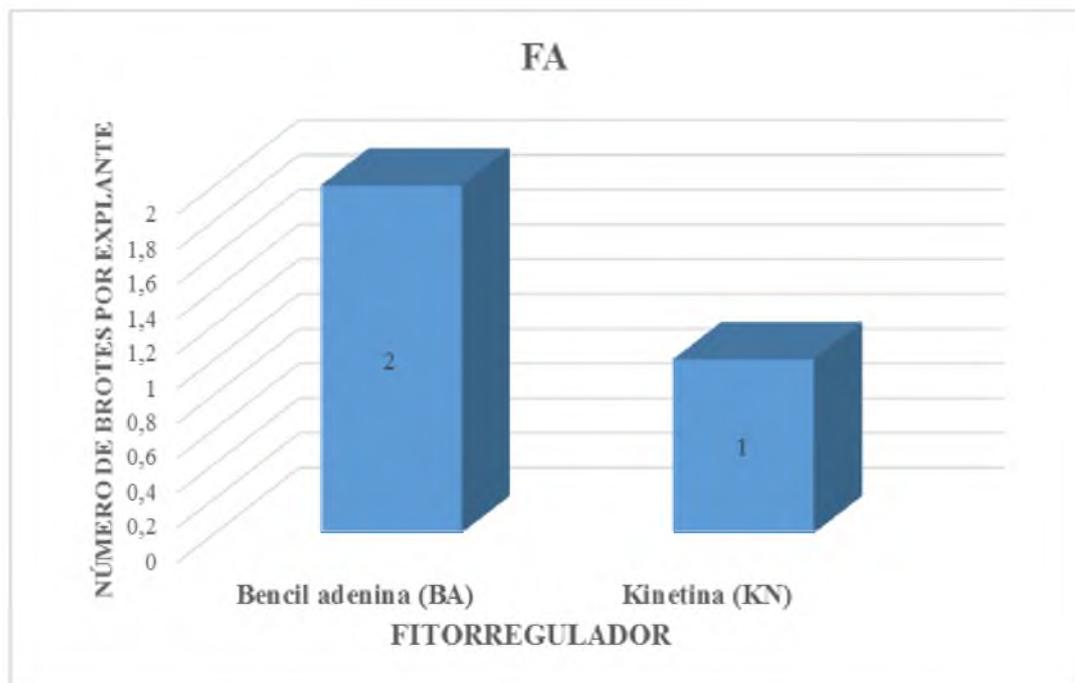


Gráfico N° 1. Resultados del FA obtenidos en la variable Número de brotes por explante (NBE).

Elaborado por: Álvaro Xavier Pazmiño.

En cuanto al indicador **número de hojas por brote (NHB)**, se determinó un promedio de 3 hojas por brote correspondientes a la inducción de Bencil adenina (BA); mientras que se determinó un promedio de 2 hojas por brote con Kinetina (KN) (Cuadro N° 1 y Gráfico N° 2).

Debido al componente y a la dosis utilizada, BA desempeñó un papel importante en el número de hojas por brote, misma inducción determinada por el potencial de división celular presentes en esta hormona.

(http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_.....)

En promedio general se presentó un resultado significativo, puesto que la fitohormona Bencil adenina (BA) registró 1 brote más en comparación con Kinetina (KN) (Cuadro N° 1).

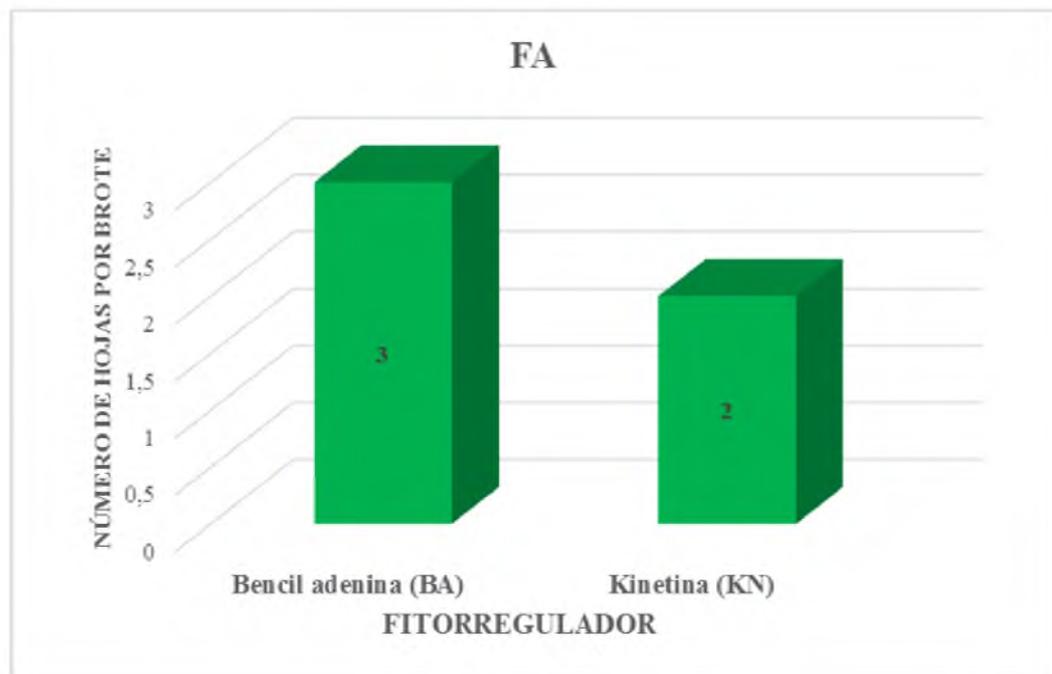


Gráfico N° 2. Resultados del FA obtenidos en la variable Número de hojas por brote (NHB).

Elaborado por: Álvaro Xavier Pazmiño.

Para la variable **altura de brotes (AB)**, se registró un promedio de 2.1 cm correspondientes a la inducción de Bencil adenina (BA); mientras que se registró un promedio de 1 cm con Kinetina (KN) (Cuadro N° 1 y Gráfico N° 3).

Como promedio general A₁ registró 1.1 cm más en comparación con A₂. Lo que demuestra que la inducción por Bencil adenina (BA) está encaminada o tiene relación con el incremento de procesos de división celular de los brotes (Cuadro N° 1).

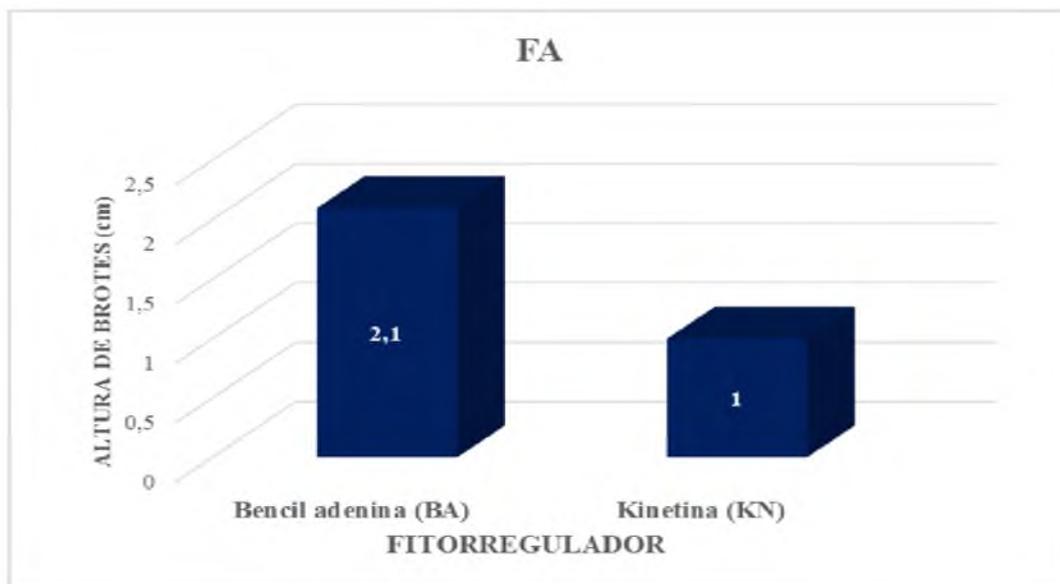


Gráfico N° 3. Resultados del FA obtenidos en la variable Altura de brotes (AB) en cm.

Elaborado por: Álvaro Xavier Pazmiño.

En cuanto al **volumen de raíz (VR)**, se registró un promedio de 0.4 g que corresponden a A₁ y 0.3 g en A₂; con una media general de 0.32 g y un coeficiente de variación de 21.15 % (Cuadro N° 1 y Gráfico N° 4).

Como resultado general, A₁ registró 0.1 g más que A₂; mismos resultados que equivalen al volumen de la raíz en cm³ (Cuadro N° 1).

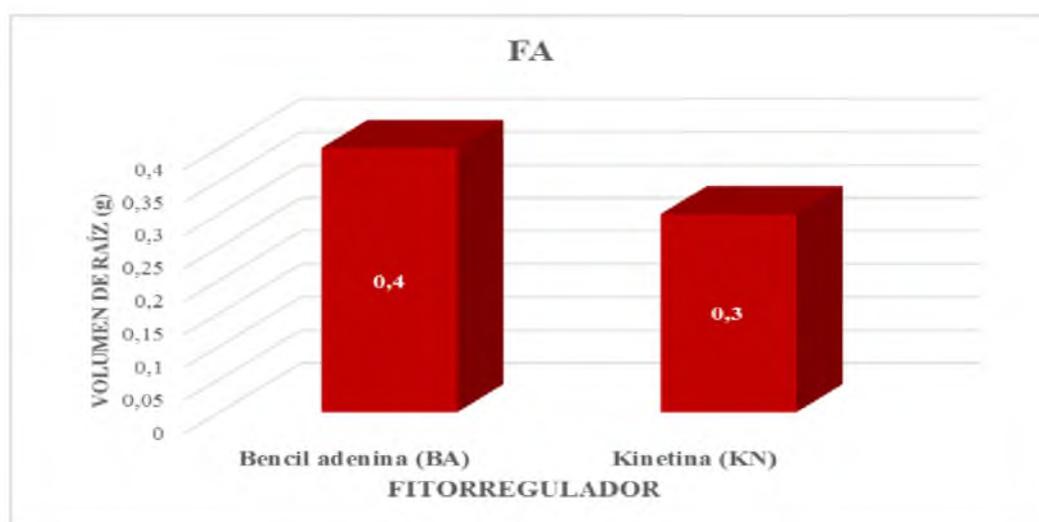


Gráfico N° 4. Resultados del FA obtenidos en la variable Volumen de raíz (VR) en g.

Elaborado por: Álvaro Xavier Pazmiño,

En lo que se refiere a la variable **Número de magentas contaminadas (NMC)**, fue no significativo (ns); registrando una media general de 1 (magenta contaminada) mismas que son ocasionadas por hongos; con un coeficiente de variación de 27.12 % (Cuadro N° 1) que refleja un resultado positivo ya que en el laboratorio de Biotecnología en el cual se realizó esta investigación la media porcentual de contaminación es de 30-40 %. Posiblemente los diferentes trabajos realizados en el laboratorio y especialmente en el ensayo se manejaron con los protocolos de asepsia necesarios para evitar contaminaciones.

Los resultados no significativos se dieron debido a que las técnicas de cultivos in vitro son la más adecuadas para erradicar patógenos, propagar clones en grandes cantidades y en corto tiempo, multiplicar plantas recalcitrantes a las técnicas convencionales, facilitar el transporte del material in vitro de un lugar a otro, posibilitar la multiplicación rápida de una variedad de la cual existan pocos individuos y esté en peligro de extinción. (Ramos, J. 2012)

Cuadro N° 2. Análisis de Tendencias Polinomiales para el Factor B (Dosis de Fitorreguladores) en las siguientes variables: Número de brotes por explante (NBE); Número de hojas por brote (NHB); Altura de brotes (AB); Volumen de raíz (VR) y Número de magentas contaminadas (NMC). Laguacoto 2017.

DESCRIPTOR	FACTOR B: DOSIS DE FITORREGULAORES			RESPUESTA	
	B1	B2	B3	LINEAL	CUADRÁTICA
Número de brotes por explante (NBE) **	1.35 B	2.17 A	1.49 B	Ns	*
Número de hojas por brote (NHB) **	2 B	3.17 A	2.67 AB	Ns	**
Altura de brotes (AB) **	1.43 B	1.80 A	1.41 B	**	**
Volumen de raíz (VR) ns	0.25 A	0.32 A	0.33 A	Ns	Ns
Numero de magentas contaminadas (NMC) ns	0.50 A	0.66 A	0.17 A	Ns	Ns

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

5.3. Factor B (dosis de fitorreguladores)

La respuesta de las dosis de fitorreguladores B₁: 10; B₂: 30 y B₃: 50 (mg); en relación a las variables número de brotes por explante (NBE); número de hojas por brote (NHB) y Altura de brotes (AB) fueron estadísticamente diferentes es decir altamente significativos (Cuadro N° 2).

En las variables volumen de raíz (VR) y número de magentas contaminadas (NMC) se presentaron resultados estadísticos similares es decir no significativo (Cuadro N° 2).

En la variable **Número de brotes por explante (NBE)**, el promedio más alto se registró en B₂ (30 mg) con 2.17 (2 brotes) y el menor se registró en B₁ (10 mg) con 1.35 (1 brote) (Cuadro N° 2 y Gráfico N° 5).

En promedio general se registró una respuesta lineal no significativa y una respuesta cuadrática significativa; mismos resultados que se muestran en el Gráfico N° 5, donde se puede observar que el uso de la citoquinina en dosis de 10 a 30 mg aumentan el número de brotes, mientras que en el rango de 30 a 50 mg existió un punto de inflexión ya que en ese rango la curva decrece, lo que se traduce en la disminución del número de brotes por explante, posiblemente porque la genética específica del ecotipo utilizado en esta investigación no resista dosis altas de fitorreguladores o tienda a intoxicarse.

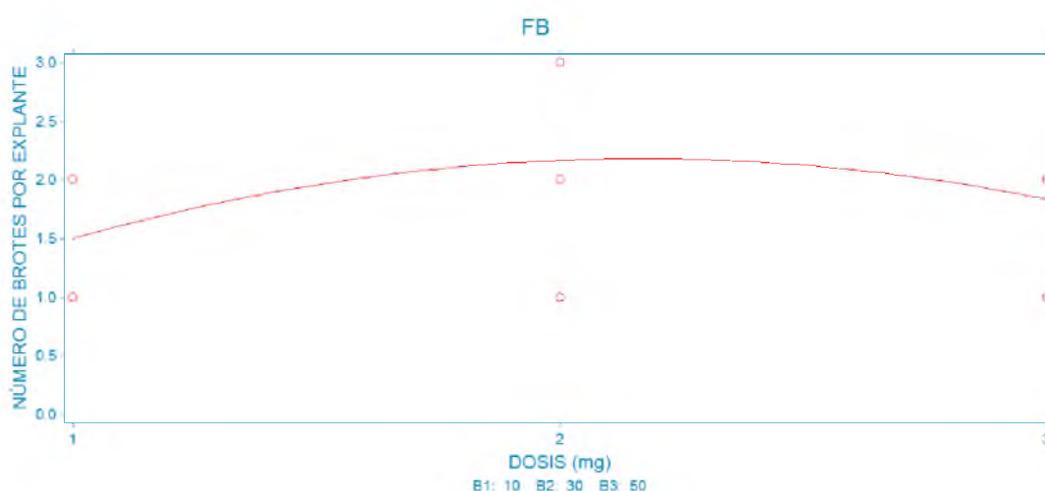


Gráfico N° 5. Resultados del FB obtenidos en la variable Número de brotes por explante (NBE).

En cuanto a la variable **Número de hojas por brote (NHB)**, se registró un promedio de 3.17 (3 hojas) que corresponden a B₂ (30 mg); en contraste con B₁ (30 mg), en donde se registró un promedio de 2 hojas (Cuadro N° 2 y Gráfico N° 6).

Como promedio general se determinó una respuesta lineal no significativa y una respuesta cuadrática altamente significativa, los mismos resultados que se exponen en el Gráfico N° 6. Se puede notar que en el incremento de la dosis (10 – 30 mg) el promedio del número de hojas se eleva, mientras que al incrementar la dosis (30 – 50 mg) del fitorregulador crea un punto de cambio o inflexión, puesto que el promedio de número de hojas tiende a decrecer, posiblemente debido a que la alta concentración del fitorregulador ocasione que el explante tienda a intoxicarse.

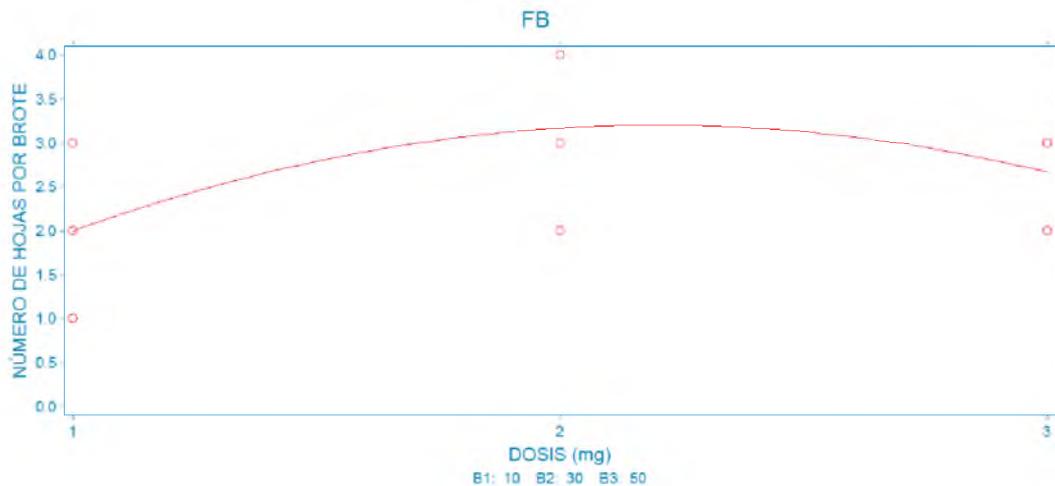


Gráfico N° 6. Resultados del FB obtenidos en la variable Número de hojas por brote (NHB).

En lo que se refiere a la variable **Altura de brotes (AB)**, se obtuvo una respuesta lineal y cuadrática altamente significativa; registrándose el promedio más alto en B₂ (30 mg) con 1.80 cm de altura, mientras que el promedio más bajo se registró en B₃ (50 mg) con 1.41 cm de altura (Cuadro N° 2 y Gráfico N° 7).

En estos resultados se puede notar que la cantidad de citoquininas óptima para el desarrollo de brotes se encuentra entre 30 y 40 mg puesto que en este rango los promedios para altura de brotes se elevan, en comparación con las dosis de aplicadas en B₁ y B₃ (10 y 50 mg respectivamente) (Gráfico N° 7).

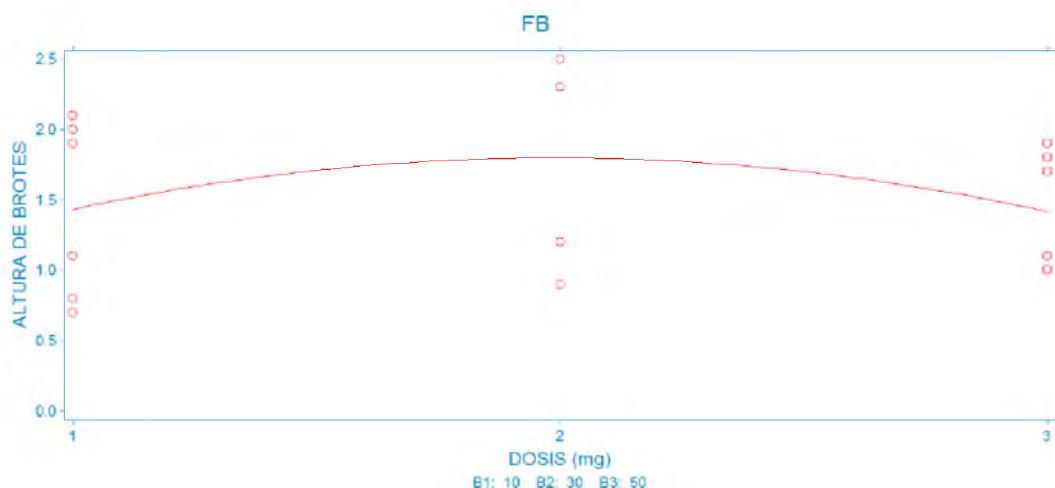


Gráfico N° 7. Resultados del FB obtenidos en la variable Altura de brotes (AB).

Para la variable **Volumen de raíz (VR)**, se presentaron resultados no significativos; registrándose el promedio mayor en B₃ (50 mg) con 0.33 g, generando resultados o promedios muy bajos, posiblemente por el uso de medio de cultivo de proliferación y no de crecimiento, ocasionando el desarrollo de un “callo” en vez de raíz (Cuadro N° 2).

En cuanto a la variable **Número de magentas contaminadas (NMC)**, también se presentaron resultados no significativos, registrándose el promedio más elevado en B₂ (30 mg) con 0.66 (1 magenta) (Cuadro N° 2).

Cuadro N° 3. Resultados de la prueba de Tukey al 5% para comparar los promedios de tratamientos en la interacción de factores AxB (Fitorreguladores x Dosis); en las siguientes variables: Número de brotes por explante (NBE); Número de hojas por brote (NHB); Altura de brotes (AB); Volumen de raíz (VR) y Número de magentas contaminadas (NMC). Laguacoto 2017.

INDICADORES	TRATAMIENTOS						CV %
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	
	A1B1	A1B2	A1B3	A2B1	A2B2	A2B3	
NBE **	2 AB	2.67 A	2 AB	1 B	1.68 AB	1.59 AB	12.4
NHB **	2.33 B	4 A	2.36 B	1.67 B	2.33 B	3 AB	17.7
AB **	2 B	2.5 A	1.8 B	0.87 C	1.1 C	1.03 C	15.3
VR ns	0.3 A	0.4 A	0.33 A	0.2 AB	0.23 AB	0.33 A	13.34
NMC ns	1 A	0 A	0.33 A	0 A	1.33 A	0 A	28.4

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

NS = No significativo

* = Significativo al 5 %

** = Altamente significativo al 1 %

5.4. Interacción de factores A x B (fitorreguladores x dosis)

La respuesta de los genotipos de tomate de árbol silvestre en cuanto a la interacción de FA y FB para las siguientes variables: Número de brotes por explante (NBE); Número de hojas por brote (NHB) y Altura de brotes (AB) fueron estadísticamente diferentes, es decir, que la frecuencia y diferenciación celular están relacionados o dependen del tipo de fitorregulador y la dosis aplicada (Cuadro N° 3).

Sin embargo, la respuesta de los genotipos de tomate en cuanto a la interacción de FA y FB en las siguientes variables: Volumen de raíz (VR) y Número de magentas contaminadas (NMC) fueron estadísticamente iguales, es decir, que estas variables o indicadores no dependieron del tipo de fitorregulador, así como de la dosis utilizada, ya que son variables cuantitativas (Cuadro N° 3).

En cuanto a la variable **Número de brotes por explante (NBE)**, el promedio más elevado se registró en T₂: A₁B₂ (Bencil adenina x 30 mg) con 2.67 (3 brotes); seguido de T₁: A₁B₁ (Bencil adenina x 10 mg) y T₃: A₁B₃ (Bencil adenina x 50 mg) con un promedio de 2 brotes por explante (Cuadro N° 3).

La respuesta de número de brotes por explante dependió del tipo de fitorregulador y de la dosis aplicada (Gráfico N° 8).

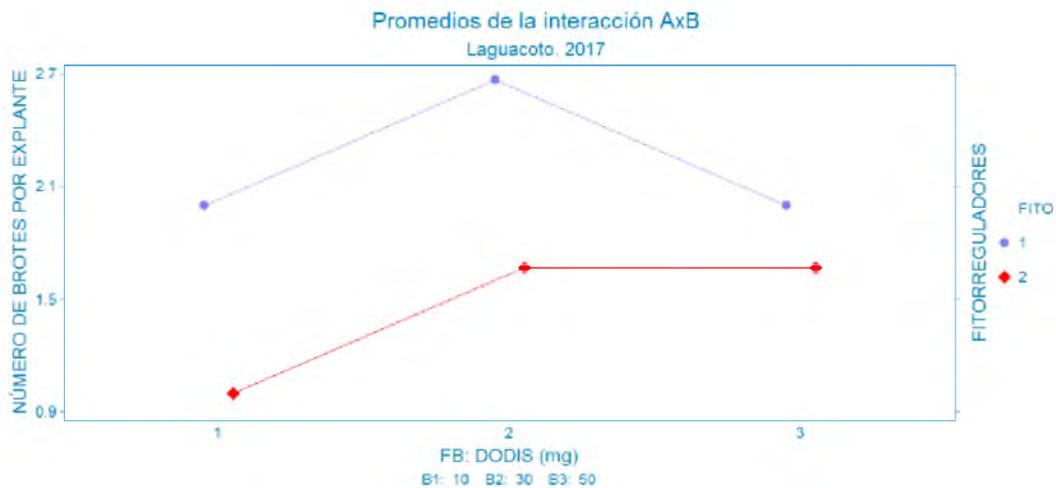


Gráfico N° 8. Promedios de la interacción AxB en la variable Número de brotes por explante (NBE).

Para la variable **Número de hojas por brote (NHB)**, se registró como promedio más elevado en T₂: A₁B₂ (Bencil adenina x 30 mg) 4 hojas; mientras que el promedio más bajo se registró en T₄: A₂B₁ (Kinetina x 10 mg) con 1.67 (2 hojas) (Cuadro N° 3 y Gráfico N° 9).

La respuesta obtenida en esta investigación muestra que el número de hojas por brote dependió del tipo de fitorregulador y de la dosis aplicada, por lo que queda validado lo expuesto por diversos autores de que la respuesta in vitro es altamente influenciada por el genotipo, tipo de explante, concentración y tipo de citoquinina.

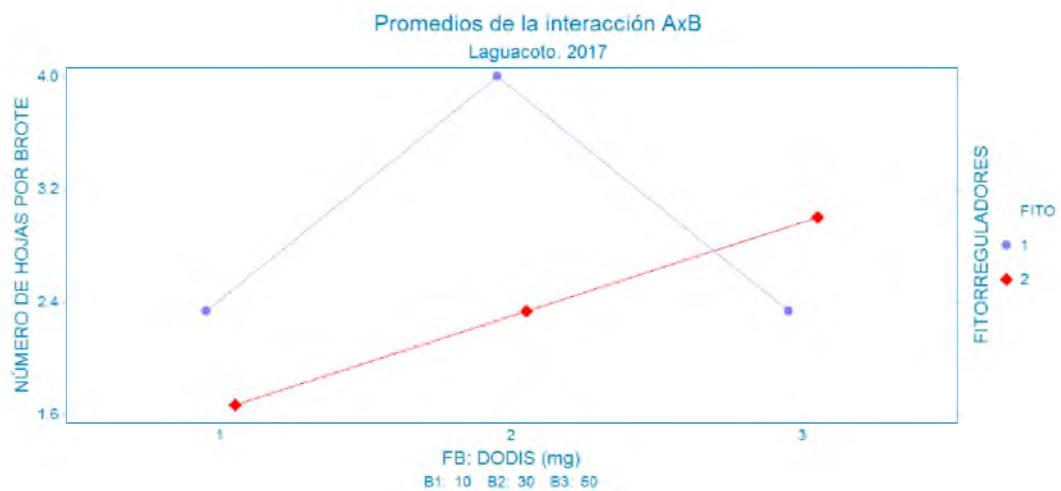


Gráfico N° 9. Promedios de la interacción AxB en la variable Número de hojas por brote (NHB).

En lo que respecta al indicador **Altura de brotes (AB)**, se registró el mejor promedio en T₂: A₁B₂ (Bencil adenina x 30 mg) con 2.5 cm de altura, mientras que el promedio más bajo se registró en T₄: A₂B₁ (Kinetina x 10 mg) con 0.87 cm de altura (Cuadro N° 3 y Gráfico N° 10).

Los presentes resultados muestran que la altura de brotes dependió del tipo de fitorregulador y de la concentración utilizada.

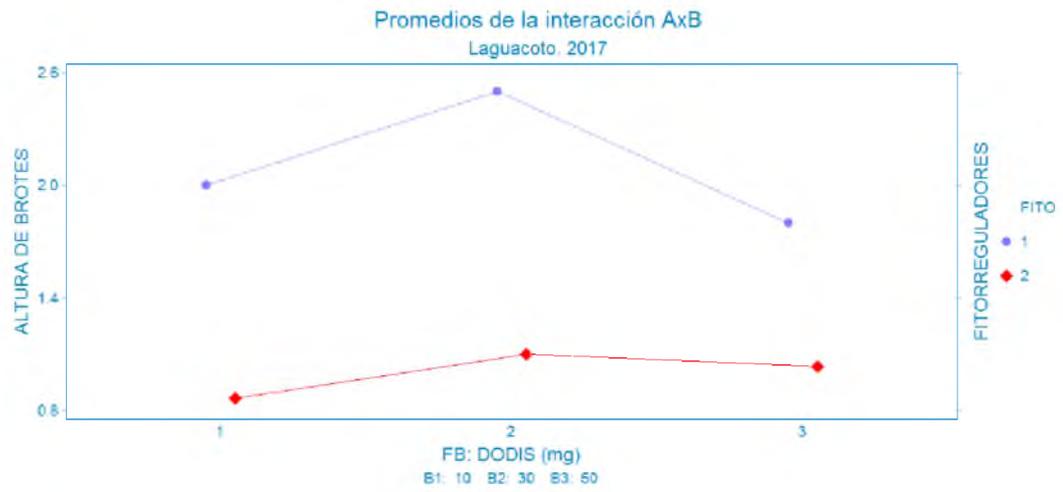


Gráfico N° 10. Promedios de la interacción AxB en la variable Altura de brotes (AB).

5.5. Análisis de correlación y regresión lineal

Cuadro N° 4. Resultados del análisis de Correlación y Regresión Lineal; en las siguientes variables: Número de brotes por explante (NBE); Altura de brotes (AB) y Dosis (FB) comparadas con el Número de hojas por brote (NHB).

Indicadores	Coefficiente de Correlación “r”	Coefficiente de Regresión “b”	Coefficiente de Determinación (%) “R ² ”
Número de brotes por explante (NBE) **	0.32	6.83 **	34
Altura de brotes (AB) *	0.28	3.38 *	14
Dosis (FB) **	0.11	1.30 *	12

** Altamente significativo 1%

* Significativo 1%

5.5.1. Coeficiente de correlación “r”

Es la relación positiva o negativa entre dos variables y su valor máximo es +/- 1 y carece de unidades.

En la presente investigación los indicadores que presentaron estrechez positiva y significativa comparadas con el Número de hojas por brote (NHB), fueron: Número de brotes por explante (NBE), Altura de brotes (AB) y Dosis (FB) (Cuadro N° 4).

5.5.2. Coeficiente de regresión “b”

Es la asociación positiva o negativa entre las variables independientes (Xs) comparadas con el componente más relevante (Y), lo que indicará el aumento o disminución del componente evaluado, por cada cambio de variable independiente.

En esta investigación los indicadores que incrementaron el Número de hojas por explante (NHE), fueron las variables: Número de brotes por explante (NBE), Altura de brotes (AB) y Dosis (FB) (Cuadro N° 4).

5.5.3. Coeficiente de determinación “R²”

El R² indica en qué porcentaje incrementaron el Número de hojas por explante (NHE) (variable dependiente) las variables independientes: Número de brotes por explante (NBE), Altura de brotes (AB) y Dosis (FB). Mientras más alto es el valor de R², mejor es el ajuste o asociación de las variables independientes comparada con la variable dependiente de la línea de regresión lineal: $Y = a + bx$.

En esta investigación el indicador que registró el valor más alto de R² fue el Número de brotes por explante (NBE) con un incremento de 34% en cuanto al Número de hojas por explante (NHE) (Cuadro N° 4). Resultados que son razonables, puesto que a mayor número de brotes se incrementa el número de hojas.

VI. Comprobación de la hipótesis

Para los indicadores: Número de brotes por explante (NBE); Número de hojas por brote (NHB) y Altura de brotes (AB) se acepta la **hipótesis alterna (Ha)**, porque la respuesta de la micropropagación in vitro de plantas de tomate de árbol dependieron del tipo de fitorregulador y el nivel de concentración o dosis utilizada (Cuadro N° 3).

Para las variables: Volumen de raíz (VR) y Número de magentas contaminadas (NMC), se acepta la **hipótesis nula (Ho)**, porque la respuesta de la micropropagación in vitro de plantas de tomate de árbol no dependieron o no tuvo influencia significativa del tipo de fitorregulador y del nivel de concentración o dosis utilizada (Cuadro N° 3).

En función de las variables NBE, NHB y AB, consideradas de suma importancia en el proceso de desarrollo de explantes en cultivos in vitro y dados los resultados en esta investigación, se concluye que existió un comportamiento diferente y variable de las plantas de tomate de árbol silvestre, por tanto de manera general aceptamos la **hipótesis alterna (Ha)**.

VII. Conclusiones y recomendaciones

7.1. CONCLUSIONES

- Se encontró un mayor número de brotes adventicios, número de hojas, altura de brotes, así como la inhibición del desarrollo de raíz y por consiguiente de su volumen general, desarrollando en vez de esta un callo en los tratamientos con Bencil adenina (A₁).
- Las dosis de fitorreguladores, se calculó una respuesta de tipo lineal en concentraciones de 30 mg. Los promedios mayores se encontraron en 30m/lt B₂ con 2 brotes por explante, 3 hojas por brote y un promedio de 1.8 cm de altura por cada brote.
- En la interacción de factores AxB: Fitorreguladores x Dosis, los resultados más elevados se registraron en T₂: A₁B₂ (Bencil adenina dosificada a 30 mg); con un promedio de 3 brotes por explante, 4 hojas por brote y 3 cm de altura por cada brote, reflejando una respuesta cuadrática con la dosis de más concentración “B₃” con la cual se observa una disminución de desarrollo, es decir con dosis de 10mg se mantiene bajo y estable el promedio de desarrollo, con 30 mg aumenta y se acelera e desarrollo pero al aumentar la dosis a 50 mg de cualquiera de los dos fitorreguladores el desarrollo vuelve a bajar por lo tanto esta respuesta se representa de forma lineal y cuadrática ya que a más dosis no se mantiene ni sube el promedio de desarrollo sino que por el contrario baja, razón por la cual se concluye en esta investigación que el rango óptimo de dosis se encuentra entre 25 y 35 mg/tl.
- La dosis de Bencil adenina (BA) desempeñó un papel importante y más determinante, en comparación con Kinetina (KT); para inducir el desarrollo de los explantes y entre ellos la formación de nuevos brotes debido que BA es químicamente más compleja que la KN.
- Las variables que incrementaron o influyeron de manera positiva en el desarrollo de los explantes fueron el número de brotes (34%), altura de brotes (14%) y Dosis (12%).

- En función del análisis de tendencias polinomiales, el uso de citoquininas y las condiciones manejadas en el laboratorio, el rango de dosificación óptima para el desarrollo de explantes es de 25 – 35 mg/lt.
- En esta investigación no existieron diferencias significativas en el volumen de raíz y el número de magentas contaminadas, se dieron estos resultados en el caso de la variable volumen de raíz porque en todos los tratamientos fueron inducidos citoquininas las cuales inhiben el desarrollo radicular, en cuanto al número de magentas contaminadas se dieron estos resultados porque se manejaron los mismos protocolos de asepsia para todos los tratamientos y repeticiones, arrojando un coeficiente de varianza de 28.4% siendo éste un rango positivo ya que en el laboratorio de biotecnología de nuestra Facultad se maneja un rango de contaminación del 30% al 40% como normal, debido a la falta de equipamiento para la desinfección del talento humano que investiga en dicho laboratorio.
- La micropropagación del ecotipo utilizado para esta investigación incidió de forma positiva por cuanto se logró un porcentaje relativamente bajo de contaminación de los explantes.
- Debido a los resultados obtenidos y al potencial genético de rusticidad, las plantas de tomate silvestre provenientes del Sector de Cascarillas en la parroquia San Pablo de Atenas están adecuadamente calificadas para su uso como porta injertos ya que presentan tolerancia fitosanitaria y buena adaptación.
- Finalmente esta investigación nos permitió seleccionar alternativas tecnológicas que contribuirán a la producción de tomate a través del ecotipo silvestre (porta injerto), con un alto porcentaje de desarrollo, un mayor número de plántulas de alta calidad y de alta tolerancia sanitaria.

7.2. Recomendaciones

En base a los resultados obtenidos en esta investigación, se recomienda:

- Para el desarrollo de los explantes in vitro se debe dar cumplimiento a los protocolos , a la asepsia que se maneje dentro del laboratorio , el material a propagarse debe reunir las características deseables de manipuleo para poder obtener plántulas de alta calidad sanitaria,
- Realizar investigaciones en la Universidad Estatal de Bolívar en el laboratorio de biotecnología dando continuidad a los estudios de plantas in vitro, puesto que es una alternativa tecnológica de producción de plantas en forma rápida y segura lo que disminuiría los costos de producción de planta y garantizando la sanidad vegetal y asegurando el ecotipo y/o la variedad lo que produciría una mayor rentabilidad al productor que contribuye a mejorar la calidad de vida y su economía, evitando a mitigar el uso excesivo de pesticidas, la incidencia de patógenos y plagas en los diferentes cultivos .
- Utilizar las plántulas del ecotipo silvestre de tomate de árbol obtenidos en esta investigación y evaluarlos como porta injertos en plantas susceptibles al ataque de nematodos, pertenecientes a la misma familia botánica y que posean importancia comercial a nivel local, nacional y regional, como los cultivares del tomate de árbol.
- Replicar la investigación con diferentes ecotipos de otras áreas ecológicas del país.

BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Agrios, G. 2009. "Fitopatología." 5 Ed. Limosa. UTEHA. México. p 734-742.
- 2.- Amaya, J. 2006. "Tomate de árbol. Biodiversidad y conservación de los recursos fitogenéticos andinos", Gerencia general de recursos naturales y conservación del medio ambiente, Perú.
- 3.- Abad P., Favery B., Rosso M. "Castagnone-Sereno P. 2003. Root-knot nematode parasitism and host response: molecular basis of a sophisticated interaction. Molecular Plant Pathology" p 217–224.
- 4.- CORPORACIÓN COLOMBIANA DE INVESTIGACIÓN (CORPOICA). 2001. "Manejo productivo del cultivo de tomate de árbol y de la antracnosis", Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, Boletín informativo, Colombia.
- 5.- Cepeda, M. 2009. "Nematología Agrícola." Trillas. Mexico D.F. 290 p
- 6.- Duncan, L. (1991). "Current options for nematode management. Annual Review of Phytopathology." P 29: 469-490.
- 7.- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, IT). 2013. "Estado mundial de la agricultura y la alimentación." Inédito. p267
- 8.- Han, S. 2001. "Benzyladenine and gibberellins improve postharvest quality of cut Asiatic and Oriental Lilies. HortScience." p 741- 745.
- 9.- Huanca W, 2010. "Métodos de reproducción asexual y su aplicación" UNA-PUNO. Perú.

- 10.- Lebn, J. 1996. “Guía para el cultivo de tomate de árbol” INIAP-COTESU, Ecuador.
- 11.- MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERÍA (MAG). 1996. “Manejo integral del cultivo de tomate de árbol”, FAO, Ecuador.
- 12.- MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERÍA (MAG). 2001, “Subprograma de cooperación técnica. Identificación de mercados y tecnología para productos agrícolas tradicionales de exportación. Tomate de Árbol”, Ecuador.
- 13.- Ramos, J. 2012. “Avances de la micro propagación in vitro de plantas leñosas.” (UNAD) p 64.
- 14.- Revelo, J. 2003. “Manejo Integrado de Plagas para el Mejoramiento de la Producción Sostenible de Frutas en la Zona Andina.” Proyecto FONTAGRO. p 28.
- 15.- Sánchez, A. López, I. Salazar, J. y Fiallos, W. 1994. “Manejo integral del cultivo del tomate de árbol”. Proyecto FAO, TCP. Quito, Ecuador.
- 16.- Salazar, S. 2015. “Tomate de árbol” Primera edición. Ecuador. Editorial Tallpa. p 30-32, 49, 63-66.

WEBGRAFÍA

- 1.- Agrobío México. Biotecnología verde. S.f. (En línea). Consultado feb. 2016. Disponible en http://www.agrobiomexico.org.mx/index.php?option=com_k2&view=item&layout=item&id=22&Itemid=16

- 2.- Cantuña, N. 2013. “Detección e identificación del nematodo formador de agallas *Meloidogyne spp.* En suelos agrícolas destinados al cultivo de *Solanum lycopersicum* mediante la técnica pcr”. (En línea). Consultado ene. 2016. Disponible en <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/7993/1/AC-B-ESPE-047705.pdf>

- 3.- CB. Udec. (Centro de Biotecnología, Universidad de Concepción) s.f. (En línea). Consultado abr 2016. Disponible en <http://www.centrobiotecnologia.cl/index.php/que-es-la-biotecnologia>

- 4.- Colimba, J.; Morales, A. 2011. “Efecto de la aplicación del silicio en el segundo año de producción en el cultivo de tomate de árbol (*Solanum betaceum*). Tesis. Ing. Agrop. Ibarra. Universidad técnica del norte” (En línea). Consultado feb. 2016. Disponible en <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/692/2/03%20AGP%20111%20TESIS.pdf>

- 5.- Camacho, V. 2011. Repositorio digital Universidad técnica de Ambato. (En línea). “Influencia del porta-injerto en la calidad del fruto de tomate de árbol y su incidencia comercial”. Consultado 01 Ago. 2016. Disponible en <http://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/1777>

- 6.- Damasco, L.; 2013. “Cultivo de tejidos vegetales. Medios de cultivo.” INSTITUTO TECNOLÓGICO DE CD. ALTAMIRANO, GRO. (En línea). Consultado abr. 2016. Disponible en <http://alvaradobiotech.blogspot.com/2013/02/tarea-medios-de-cultivo.html>

7.- El Universo. 2011. (En línea). Consultado ene. 2016. Disponible en <http://www.eluniverso.com/2011/04/30/1/1416/nematodos-enemigos-ocultos.html>

8.- Galarza. A. 2009. “Perfiles de producto. Perfil de Tomate de Árbol.” (CICO) (CORPEI) (PUCE) (En línea). Consultado mar. 2016. Disponible en <http://www.pucesi.edu.ec/pdf/tomate.pdf>

9.- García. J. s.f. Biología y Botánica. U.P.V. (En línea). Consultado en mar. 2016. Disponible en <http://www.euita.upv.es/variados/biologia/Temas%20PDF/Tema%2014b%20Regulaciones%20del%20Crecimiento.%20Citoquininas.pdf>

10.- Instituto nacional de estadísticas y censos (INEC). 2012. “Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua (ESPAC).” (En línea). Consultado febr. 2016. Disponible en <http://www.ecuadorencifras.gob.ec/wp-content/descargas/Presentaciones/PRESENTACION-Espac.pdf>

11.- Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca. Xoxocotlán, C. P. 71230, Oaxaca, México. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1853-86652014000100008.html

12.- INIAP. DICYT (Agencia iberoamericana para la difusión de la ciencia y la tecnología, Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuaria, EC). (En línea). Consultado mar 2016. Disponible en <http://www.dicyt.com/noticias/presentan-un-portainjertos-de-tomate-de-arbol-resistente-a-nematodos-y-fusarium>

13.- INFOJARDIN. Nematodos. S.f. (En línea). Consultado mar. 2016. Disponible en http://articulos.infojardin.com/PLAGAS_Y_ENF/PLAGAS/Nematodos.htm

14.- Lucas, k.; Maggi, J.; Yagual, M. 2011. “Creación de una empresa de producción, comercialización y exportación de tomate de árbol en el área de Sanolquí provincia de Pichincha. Tesis Ing. C.E. Guayaquil. Escuela superior politécnica del litoral.” (En línea). Consultado mar. 2016. Disponible en <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/10688/2/TOMATE%20DE%20ARBOL.pdf>

15.- Pérez, S. (Curso 2005-2006). (En línea) consultado abr. 2016 disponible en https://www.google.com.ec/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwjDoZvM5a3OAhUFdR4KHak9DhoQFggaMAA&url=http%3A%2F%2Fwww.unioviado.es%2Fbos%2FAsignaturas%2FFvca%2FApunte%2FTema26.doc&usg=AFQjCNGoJvuGt8_LtpdRoMukYVDJ5FxBIg&sig2=2C0_ortahDBBTJftRAOJZw&bvm=bv.129391328,d.dmo

16.- Revelo, J.; Pérez, E.; Maila, M. 2011. “El cultivo de tomate de árbol, Ecología del cultivo de tomate de árbol.” (INIAP) (PROMSA) (FONTAGRO) (En línea). Quito, Ecuador. Consultado feb. 2016. Disponible en http://www.iniap.gob.ec/nsite/images/documentos/Cultivo%20_tomate_ecologico.pdf

17.- Soria, N. 2009. “Tecnología Del Cultivo De Tomate De Árbol.” (En línea). Tomate de Árbol. Consultado abr. 2016. Disponible en <http://tomatederbolproyecto.blogspot.com/>

18.- Zárate, S. (2008). cita a Williamson, V., & Hussey, R. 1996. Nematode Pathogenesis and Resistance in Plants. *The Plant Cell*. 8: 1735-1745. (En línea). Consultado mar. 2016. Disponible en <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/1042/1/T-ESPE-026698.pdf>

ANEXOS

ANEXO N° 1

Mapa de ubicación



Vista general de la ubicación de la Facultad de Ciencias Agropecuarias Recursos Naturales y del Ambiente, cantón Guaranda provincia Bolívar.

ANEXO N° 2

Evidencias fotográficas

Brotos en medio de proliferación



Preparación medio de cultivo



Calibración del Ph



Disolución de agar



Esterilizacion del medio



Area de incubacion



Resultados con el medio de crecimiento



Manipuleo en el área de transferencia



Transmagentado



Diferenciación y sellado de los tratamientos y de las repeticiones



Área de incubación



Toma de los primeros datos



Tratamientos y repeticiones



Resultados



ANEXO N° 3

BASE DE DATOS

MICRO PROPAGACIÓN IN VITRO DE PLANTAS DE TOMATE DE ÁRBOL SILVESTRE (*Solanum sp.*) CON DOS TIPOS DE FITORREGULADORES, APLICADOS EN TRES DOSIS.

V1. Tratamientos

V2. Ecotipos de Tomate de árbol

V3. FA (Fitorreguladores)

V4. FB (Dosis)

V5. Altura de brotes (AB)

V6. Número de brotes por explante (NBE)

V7. Número de hojas por brote (NHB)

V8. Volumen de raíz (VR)

V9. Número de Magentas contaminadas (NMC)

1	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9
1	TESTIGO	1	0	0	1	0	0	0	2
2	T1	1	1	1	1.9	2	2	0.3	1
3	T2	1	1	2	2.3	2	4	0.4	0
4	T3	1	1	3	1.7	2	2	0.3	0
5	T4	1	2	1	0.7	1	1	0.2	0
6	T5	1	2	2	0.9	1	2	0.2	1
7	T6	1	2	3	1.1	2	3	0.3	0
8	TESTIGO	1	0	0	1	0	1	0.1	1
9	T1	1	1	1	2.1	2	2	0.3	2
10	T2	1	1	2	2.5	3	4	0.4	0
11	T3	1	1	3	1.9	2	3	0.4	0
12	T4	1	2	1	0.8	1	2	0.2	0
13	T5	1	2	2	1.2	2	3	0.2	1
14	T6	1	2	3	1	1	3	0.3	0
15	TESTIGO	1	0	0	2	0	2	0.1	1
16	T1	1	1	1	2	2	3	0.3	0
17	T2	1	1	2	2.7	3	4	0.4	0
18	T3	1	1	3	1.8	2	2	0.3	1
19	T4	1	2	1	1.1	1	2	0.2	0
20	T5	1	2	2	1.2	2	2	0.3	2
21	T6	1	2	3	1	2	3	0.4	0

ANEXO N° 4

Glosario de términos:

- ❖ **Biotecnología:** La biotecnología se refiere a toda aplicación tecnológica que utilice sistemas biológicos y organismos vivos o sus derivados para la creación o modificación de productos o procesos para usos específicos (Convention on Biological Diversity, Article 2. Use of Terms, United Nations. 1992).
- ❖ **Agrobiotecnología:** Es la tecnología basada en la biología, especialmente usada en agricultura, farmacia, ciencia de los alimentos, ciencias forestales y medicina. Se desarrolla en un enfoque multidisciplinario que involucra varias especialidades y ciencias como biología, bioquímica, genética, virología, agronomía, ingeniería, física, química, medicina y veterinaria entre otras.
- ❖ **Valores FOB:** Se utiliza para valorar las Exportaciones y se define como "libre a bordo". Se refiere al Valor de Venta de los productos en su lugar de origen más el Costo de los fletes, seguros y otros Gastos necesarios para hacer llegar la Mercancía hasta la Aduana de salida.
- ❖ **Genotipos:** Se refiere a la información genética que posee un organismo en particular, en forma de ADN. Normalmente el genoma de una especie incluye numerosas variaciones o polimorfismos en muchos de sus genes.
- ❖ **Ecotipo:** Es una subpoblación genéticamente diferenciada que está restringida a un hábitat específico, un ambiente particular o un ecosistema definido, con unos límites de tolerancia a los factores ambientales.
- ❖ **Sanidad radicular:** Se refiere a la incidencia o no de patógenos y plagas a nivel de la raíz en los vegetales.
- ❖ **Porta injertos:** Patrón o pie es la planta en donde se realiza el injerto de otra de su misma familia botánica.
- ❖ **Fitoregulador:** Es una sustancia natural o artificial sintética que estimula o inhibe ciertos procesos específicos de la fisiología propia de las plantas, es decir que actúan como hormonas vegetales
- ❖ **Explante:** Es un tejido vivo de la planta separado de su órgano propio y transferido a un medio artificial de crecimiento.
- ❖ **Rusticidad:** Capacidad de un ser vivo que ha adquirido o desarrollado para sobrevivir en condiciones adversas propias del entorno natural en el que existe.

- ❖ Características organolépticas: son las características físicas que pueden percibir de ellos los distintos sentidos, como el sabor, el olor, la textura y el color.
- ❖ Tejidos vegetales: En los tejidos vegetales superiores las células se agrupan para construir tejidos que desempeñan diversas funciones. Estos pueden dividirse en tejidos meristemáticos, que ayudan al crecimiento de la semilla a la longitud y grosor de la planta, y en tejidos adultos o definitivos.
- ❖ Agar: Es un agente gelificante del medio de cultivo.
- ❖ Cámara de flujo laminar: es un recinto que emplea un ventilador para forzar el paso de aire a través de un filtro HEPA o ULPA y proporcionar aire limpio a la zona de trabajo libre de partículas de hasta 0.1 micras.
- ❖ Autoclave: Una autoclave es un recipiente de presión metálico de paredes gruesas con un cierre hermético que permite trabajar a alta presión para realizar una reacción industrial, una cocción o una esterilización con vapor de agua. Su construcción debe ser tal que resista la presión y temperatura desarrollada en su interior. La presión elevada permite que el agua alcance temperaturas superiores a los 100 °C.
- ❖ Esterilización: Destrucción de todas las formas de vida microscópicas, incluidos virus y esporas.
- ❖ Magentas: Recipiente generalmente de plástico o vidrio que contiene los explantos obtenidos por la micro propagación.
- ❖ Reactivos: toda sustancia que interactúa con otra en una reacción química y que da lugar a otras sustancias de propiedades, características y conformación distinta, denominadas productos de reacción o simplemente productos.