



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGROPECUARIAS

EVALUACIÓN IN VITRO DE LA GERMINACIÓN Y VIABILIDAD DEL
POLEN DE SEGREGANTES DE TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum
betaceum*), EN FUNCIÓN DEL TIEMPO DE ALMACENAMIENTO.



AUTOR

Gabriela Fernanda Alminate Romero

AÑO

2017



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGROPECUARIAS

EVALUACIÓN IN VITRO DE LA GERMINACIÓN Y VIABILIDAD DEL POLEN
DE SEGREGANTES DE TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betaceum*), EN
FUNCIÓN DEL TIEMPO DE ALMACENAMIENTO.

Trabajo de Titulación presentado en conformidad con los requisitos
establecidos para optar por el título de Ingeniera Agroindustrial y de Alimentos.

Profesor Guía

Ph.D. Mauricio Andrés Racines Oliva

Autora

Gabriela Fernanda Alminate Romero

Año

2017

DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUIA

“Declaro haber dirigido este trabajo a través de reuniones periódicas con el estudiante, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”

Mauricio Andrés Racines Oliva
Doctor of Bioscience Engineering.
CI.171090216-2

DECLARACIÓN PROFESOR CORRECTOR

“Declaro haber revisado este trabajo, dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”.

Wilson Arturo Vásquez Castillo
Doctor en Fisiología de Plantas.
CI. 100118621-0

DECLARACIÓN DEL ASESOR CIENTÍFICO

“Declaro haber asesorado científicamente al estudiante para la realización de su trabajo experimental de titulación, conduciéndole con coherencia en el conjunto de procedimientos realizados y orientando sus conocimientos para lograr los objetivos propuestos”.

Andrea Verónica Sotomayor Correa
Magister en Gestión de Proyectos.
CI. 171557483-4

DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE

“Declaro que este trabajo es original, de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes.”

Gabriela Fernanda Alminate Romero

CI. 172158502-2

AGRADECIMIENTOS

Sin duda esta tesis ha sido una meta más alcanzada, es por esto que quiero agradecer a mi familia Santiago P. y Santiago D., principalmente a mi madre Hipatia y abuelita Charito quienes nunca me han dejado desmayar en el intento.

A mis maestros quienes han sido un eje fundamental en la obtención del conocimiento para mi vida profesional.

A mis amigos quienes han hecho de mí la persona solidaria y humana, quien soy hoy en día.

DEDICATORIA

Posiblemente en este momento no entiendas mis palabras, pero cuando lo hagas, quiero que te des cuenta de cuánto significas en mi vida, eres mi pilar fundamental para levantarme día a día, soñar y alcanzar logros para el presente y futuro.

TE AMO AMELIA VALENTINA.

Resumen

En el Ecuador los cultivos del frutal *Solanum betaceum* se desarrollan entre 3200 a 4282 m. de altura, la propagación de este frutal, se ha visto limitada por la baja calidad de futa que presenta en su periodo productivo, variedades inadecuadas utilizadas, falta de diferenciación específica entre variedades. Este cultivo es considerado como marginal y se lo ha catalogado como un cultivo de subsistencia, el cual no se lo ha considerado en programas de conservación y mejora de recursos fitogenéticos.

Con el objetivo de contribuir al esclarecimiento de las causas que pueden estar ocasionando esta problemática se emprendió el presente estudio para determinar el mejor segregante de *Solanum betaceum* a partir del porcentaje de viabilidad y germinación del polen de cinco segregantes, previamente seleccionados, siendo evaluados en las instalaciones de la Granja Experimental INIAP – Tumbaco.

Estos segregantes fueron seleccionados previamente por sus características organolépticas y rendimiento, se evaluó el porcentaje de germinación del polen empleando un medio de germinación compuesto de ácido bórico, sacarosa cristal y tween 20, valorando su capacidad germinativa y crecimiento del tubo polínico a las 24 horas. Además, se evaluó la viabilidad del polen empleando tinte de acetocarmín determinando el porcentaje de viabilidad mediante la tinción del polen a partir de 24 horas.

El polen de los diversos segregantes evaluados, se obtuvieron a partir del día anterior a la antesis, en la antesis y el día posterior a la antesis, los mismos que se evaluaron individualmente a diferentes días de almacenamiento (0, 5, 10, 20, 30 y 45 días) sometidos a 2 temperaturas de almacenamiento (4 °C y 22 °C). El polen obtenido del segregante GT33P2 del día previo a la antesis, sometido a 0 días de almacenamiento y temperatura de 22 °C generó la mayor diferencia significativa con los demás tratamientos evaluados, haciendo de este el mejor tratamiento.

Abstract

In Ecuador the crop of the fruit *Solanum betaceum* develop between 3200 and 4282 m. of height, with respect to the propagation of the production of this fruit, has been limited by factors such as lack of specific differentiation between varieties, low quality of fruit, use of inadequate varieties, besides, it is a subsistence crop and is cataloged as species marginalized, not considered in programs of conservation and improvement of plant genetic resources.

With the objective of contributing to the clarification of the causes that may be causing this problem, the present study was developed to determine the best segregant of *Solanum betaceum* from the percentage of viability and pollen germination of five previously selected segregants, being evaluated in Granja Experimental INIAP – Tumbaco.

These segregants were previously selected for their organoleptic characteristics and yield, the percentage of pollen germination was evaluated using a germinative medium composed of boric acid, sucrose crystal and tween 20, assessing their germinative capacity and pollen tube growth at 24 hours. In addition, the viability of the pollen was evaluated using acetocarmine dye determining the percentage of viability by pollen staining after 24 hours.

Pollen from different segregantsevaluated were obtained from the day before the anthesis, in the anthesis and the day after the anthesis, which were evaluated individually on different days of storage (0, 5, 10, 20, 30 and 45 days) subjecting them to 2 storage temperatures (4 ° C and 22 ° C). The pollen obtained from the segregant GT33P2 of the day before the anthesis, subjected to 0 days of storage and temperature of 22 °C generated the largest significant difference with the other treatments evaluated, making this the best treatment.

ÍNDICE

1. Capítulo I. Introducción.....	1
1.1. Antecedentes	1
1.2. Justificación	3
1.3. Objetivos	5
2. Capítulo II. Marco Teórico.....	5
2.1. El tomate de árbol (<i>Solanum betaceum Cav</i>).....	5
2.2. Origen	6
2.3. Principales zonas de producción del cultivo	7
2.4. Clasificación taxonómica.....	8
2.5. Condiciones agroclimáticas del cultivo	8
2.6. Descripción botánica	8
3. Capítulo III. Metodología.....	16
3.1. Localización del experimento	16
3.2. Condiciones climatológicas	16
3.3. Materiales y equipos.....	17
3.4. Métodos.....	18
4. Capítulo IV. Resultados y Discusión.....	30
4.1. Apertura floral.....	30
4.2. Germinación de los granos de polen.....	33
4.3. Porcentaje de viabilidad del polen	38
4.4. Comparación entre las variables de porcentaje de germinación y porcentaje de viabilidad de polen	42
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	44
5.1. Conclusiones.....	44
5.2. Recomendaciones	44
REFERENCIAS.....	45

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Condiciones meteorológicas Granja Experimental Tumbaco INIAP, durante el periodo del estudio.....	17
Tabla 2. Materiales y equipos utilizados en el estudio.....	17
Tabla 3. Calidad del polen de los tratamientos según los estados fenológicos de la apertura floral de tomate de árbol.....	19
Tabla 4. Esquema del análisis de varianza de los estadios fenológicos de apertura de la flor de los segregantes de tomate de árbol.	19
Tabla 5. Esquema del análisis de varianza de los estadios fenológicos de apertura de la flor de 5 segregantes de tomate de árbol.	20
Tabla 6. Segregantes de tomate de árbol utilizados en el estudio.....	21
Tabla 7. Período de almacenamiento de polen de tomate de árbol.....	21
Tabla 8. Temperaturas de almacenamiento de los granos de polen de tomate de árbol	22
Tabla 9. Características del experimento para estudiar la viabilidad y germinación del tomate de árbol.....	22
Tabla 10. Descripción de los tratamientos en estudio por la combinación de los 3 factores.....	23
Tabla 11. Análisis de varianza para DCA en arreglo factorial 5 x 2 x 6 con cinco repeticiones.....	25
Tabla 12. Análisis de varianza de la germinación y viabilidad de 3 estados fenológicos de la apertura floral de tomate de árbol.....	30
Tabla 13. Análisis de varianza para el porcentaje de germinación y ... viabilidad de cinco segregantes en tres estados fenológicos de la apertura floral de tomate de árbol.....	31

Tabla 14. Cuadro de separación de medias de la germinación (%) y viabilidad (%) referente a los segregantes de tomate de árbol.....	32
Tabla 15. ANOVA para la germinación de los granos de polen de cinco segregantes de tomate de árbol a las 24 horas antes de la dehiscencia de la flor.....	34
Tabla 16. Promedios, desviación estándar y prueba de Tukey ($\leq 0,05\%$) de la germinación de cinco segregantes de tomate de árbol.....	35
Tabla 17. Promedios, desviación estándar y prueba de Tukey ($\leq 0,05\%$) de la germinación en dos temperaturas de almacenamiento de polen de tomate de árbol.....	35
Tabla 18. Promedios, desviación estándar y prueba de Tukey ($\leq 0,05\%$) de la germinación de tomate de árbol en seis periodos de almacenamiento.....	36
Tabla 19. Promedios, desviación estándar y prueba de Tukey ($\leq 0,05\%$) de la germinación de la interacción entre los materiales de tomate de árbol con la temperatura de almacenamiento.....	38
Tabla 20 ANOVA para la viabilidad del polen de seis segregantes de tomate de árbol.....	39
Tabla 21 Promedios, desviación estándar y prueba de Tukey ($\leq 0,05\%$) de la viabilidad de cinco segregantes de tomate de árbol.....	39
Tabla 22. Promedios, desviación estándar y prueba de Tukey ($\leq 0,05\%$) de la viabilidad de dos temperaturas de almacenamiento de polen de tomate de árbol.....	40
Tabla 23. Promedios, desviación estándar y prueba de Tukey ($\leq 0,05\%$) de la germinación de tomate de árbol en seis periodos de almacenamiento.....	41
Tabla 24. Promedios, desviación estándar y prueba de Tukey ($\leq 0,05\%$) de la viabilidad de tomate de árbol en dos temperaturas de almacenamiento.....	42

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Cultivo de tomate de árbol (<i>Solanum betaceum</i>)	6
Figura 2. Procedencia y producción de tomate de árbol	6
Figura 3. Zonas de alta producción del cultivo de tomate de árbol. 1) Imbabura, 2) Pichincha, 3) Tungurahua y 4) Azuay	7
Figura 4. Morfología floral tomate de árbol.....	10
Figura 5. Estructura del androceo de la flor de tomate de árbol.....	11
Figura 6. Formación del grano de polen de Solanaceas	12
Figura 7. Desarrollo de granos de polen de Solanaceas.....	13
Figura 8. Estructura del grano de polen de Solanaceas.....	14
Figura 9. Apertura de tecas en flor de tomate de árbol	15
Figura 10. Fecundación de Solanáceas	16
Figura 11. Relación entre días de apertura floral D0, D1 y D2 para germinación y viabilidad de tomate de árbol.	33
Figura 12. Granos de polen del material GT33P2, germinados del periodo 0 de almacenamiento.	37
Figura 13. Granos de polen viables del día 0 de almacenamiento.....	41
Figura 14. Comparación de promedios, desviación estándar y prueba de Tukey ($\leq 0,05\%$) de la germinación y viabilidad de cinco segregantes de tomate de árbol.....	43

1. Capítulo I. Introducción

1.1. Antecedentes

El tomate de árbol (*Solanum betaceum Cav*), también llamado tomate cimarrón, tomate de palo o tamarrillo según su país de origen y producción, pertenece a la familia de las Solanáceas. Su tallo tiene corteza grisácea, consta de follaje perenne y es una especie suculenta de hoja persistente (Prohens, Rodríguez y Núñez, 2004). El frutal es procedente de la región Andina de América del Sur, encontrándose dispersa en los Andes de diversos países como: Bolivia, Colombia, Ecuador y Perú. Además, se encuentra cultivada en zonas montañosas de África, India y Australia. Actualmente el frutal es cultivado comercialmente en países como Ecuador, Perú, Colombia y en Nueva Zelanda (Lewis y Considine, 1999). Se ha introducido y producido en menor escala en países de Centroamérica, Estados Unidos, México y en diversos países de los continentes europeo y asiático (Revelo, Pérez y Maila, 2003).

En Ecuador, la propagación de la producción del frutal, encuentra en baja escala, dado su limitación por la baja calidad de frutas, utilización de variedades inadecuadas o sustitución de las variedades locales por materiales de otros orígenes; adicionalmente, se lo ha catalogado como un cultivo de subsistencia y una especie marginal, por lo que no ha sido incluido en programas de conservación y mejora de recursos fitogenéticos (Acosta, 2011). Actualmente en Ecuador, el desarrollo de frutales andinos ha generado un aumento en su rendimiento. Dentro de los frutales más sobresalientes, se encuentra el tomate de árbol, el mismo que esta cultivado en diversas provincias de la región Sierra, siendo las más importante por la superficie: Tungurahua, Imbabura y Azuay (Revelo et al., 2003).

En Ecuador la producción de este frutal se ha incrementado considerable y el volumen de exportación. El promedio exportado en el año 2010 se exportaron 23,62 ty en el periodo 2014 al 2015 fue 159,86 t., incrementándose un 85% con referencia al volumen exportado en los últimos 5 años, esto debido a una

adecuada comercialización a escala local y exportación (Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2016).

La probabilidad de autofecundación en las plantas se incrementa, debido a la proximidad de los órganos sexuales en las flores hermafroditas, generando una producción más rentable y eficiente, ya que al provenir el polen de una planta madre las combinaciones génicas son transmitidas a la generación siguiente, sin segregación manteniéndose por tanto estas características en las generaciones siguientes (Ramirez y Berry, 1995). Sin embargo, existen sistemas de incompatibilidad sexual (SI) como; la incompatibilidad gametofítica o esporofítica. Varias familias de las angiospermas, han desarrollado este mecanismo natural que permite al pistilo rechazar el polen propio y aceptar el de plantas genéticamente diferentes (Jiménez y Cruz, 2011). Si este tipo de problemas son superados o inexistentes la fecundación dará lugar a la formación de un cigoto y la de la semilla. De aquí la importancia de asegurar la progenie de los cruzamientos a partir de especies segregantes seleccionados a ser utilizados como parentales masculinos.

Las investigaciones generadas sobre la calidad del polen tienen gran importancia con la reproducción sexual, porque permiten obtener híbridos con mejores características agronómicas e incrementar la eficiencia del mejoramiento genético con mejores características agronómicas y calidad de fruto. Se parte del conocimiento de la viabilidad del polen, característica importante para la fecundación del estigma, permitiendo la producción de semilla sin dificultad (Aramendizet al., 2012).

Diferentes métodos han sido considerados para evaluar la viabilidad del polen, con la finalidad de medir el porcentaje de germinación, crecimiento y estimación del grado de fertilidad del grano de polen (Galletta, 1983; Kearns e Inouye, 1993). Existen diferentes métodos para evaluar la germinación y viabilidad del polen en las plantas: 1) los ensayos *in vitro* en un medio de germinación adecuada, 2) la tinción de la célula vegetativa grano de polen,

3) pruebas para la actividad enzimática del polen, 4) la tinción del polen con colorantes fluorescentes y 5) ensayo *in vivo* que implica la vigilancia del crecimiento del tubo polínico en el estigma y el estilo.

La prueba de germinación *in vivo*, se considera la prueba de la viabilidad del polen más auténtico; sin embargo, toma mucho tiempo, ya que tienen gran número de parámetros a controlar y los organismos vivos exhiben una gran variabilidad, incluso con el tiempo, que no puede ser realmente controlada. Diferentes técnicas de tinción dan resultados rápidos, pero no determinan la germinación de polen real, sino más bien la actividad enzimática de los granos de polen o su integridad de la membrana por lo que se le considera una técnica de viabilidad. El ensayo *in vitro* es el método de viabilidad de polen más utilizado en los programas de mejoramiento de plantas, ya que proporciona una estimación rápida y simple de la germinación del polen real bajo condiciones definidas (Shivanna, Linskens y Cresti, 1999; Dantas, Peixoto, Nodari y Guerra, 2005).

1.2. Justificación

En el año de 1995 se fija definitivamente el nombre científico del tomate de árbol como *Solanum betaceum*, el mismo que sustituyó el nombre científico anterior de *Cyphomandra betacea*. El frutal posee entre 35 y 50 variedades originarias de los países tropicales de América. Hace algunos años, varios autores mantuvieron que el tomate de árbol era nativo de la región Andina (Morton, 1987), principalmente de la región oriental de Colombia, Ecuador y Perú (Bohs y Nelson, 1999). Sin embargo, la cita del trabajo realizado por Bohs y Nelson (1999), señala que el tomate de árbol cultivado, está directamente relacionado con materiales silvestres nativos de Bolivia, esto ha sido considerado por el hallazgo de características morfológicas en el frutal, evidencias moleculares y datos de campo señalan que estos ecotipos pueden ser originarios de Bolivia.

Este frutal existe desde hace varios años en el Ecuador, encontrándose en zonas como Patate y Baños (Ministerio de Agricultura y Ganadería MAG, 2015), a pesar de que es cultivado en la mayoría de las provincias de la Serranía ecuatoriana. Debido al crecimiento de la demanda nacional, la producción del cultivo se ha esparcido por diversas regiones del país, siendo Tungurahua la provincia de mayor superficie cosechada de 585 ha. cosechadas, con una producción de 12013,00 t, seguido de la provincia de Imbabura con una superficie cosechada 917 ha, con una producción de 11117.08 t (Instituto Nacional de Estadística y Censos y Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria, 2013). El incremento en la demanda, ha generado la necesidad en el consumidor de adquirir productos de mejor calidad en los productos provenientes del cultivo como lo son: sabor, tamaño, razón por la cual el consumo per cápita se ha incrementado de 0,9 kg en el año 2006 a 1,9 kg en el año 2009 (Centro de Información e Inteligencia Comercial CICO, 2009).

Las variedades nacionales que se producen en el Ecuador provienen de cruzamientos naturales, dando como resultado, materiales con gran heterogeneidad genética reflejado en mejores características agronómicas como: calidad de fruta y productividad. El fitomejoramiento a través de cruzamientos dirigidos es fundamental en la generación de genotipos con mejores características para incrementar producción y calidad del fruto y la tolerancia a factores bióticos y abióticos, generando un impacto positivo en la sociedad y el ambiente. Es prioritario conocer la calidad del polen (viabilidad y germinación) en programas de mejoramiento genético.

Este proyecto tiene como finalidad seleccionar los mejores parentales masculinos de tomate de árbol a partir de la calidad del polen, para esto se determinara la mejor técnica de evaluación de la calidad de polen a través de la tinción para la determinación de viabilidad y porcentaje de germinación en condiciones *in vitro*, de diferentes materiales previamente seleccionados por el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias(2016) mismos que podrían

ser utilizados en programas de mejoramiento genético, para el desarrollo de nuevas variedades con tolerancia o resistencia a factores bióticos y abióticos, esto, con el propósito de mejorar y beneficiar la economía de los pequeños productores, mediante la obtención de material genético óptimo por su rendimiento y calidad en campo. Los materiales seleccionados por el Programa Nacional de Fruticultura llevado a cabo en el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), mantienen mejores características en calidad de fruto, estos materiales se los incluirá en futuros programas de mejoramiento.

1.3. Objetivos

1.3.1. General

Evaluar la calidad del polen de segregantes de tomate de árbol (*Solanum betaceum*) para su utilización en programas de fitomejoramiento.

1.3.2. Específicos

Evaluar la viabilidad y germinación de granos de polen de cinco segregantes de tomate de árbol.

Comparar la calidad del polen con base en la viabilidad y germinación del polen.

Seleccionar el mejor segregante de tomate de árbol, basado en la calidad del polen.

2. Capítulo II. Marco Teórico

2.1. El tomate de árbol (*Solanum betaceum Cav*)

El tomate de árbol llamado en 1799 por Cavanilles, *Solanum betaceum*, fue cambiado de género en el año 1845 por Sendtner a *Cyphomandra*, el mismo que se mantuvo hasta el año 1995, donde Bohs lo nombró nuevamente *Solanum* (Heiser y Anderson, 1999).

En la Figura 1, se puede apreciar el fruto e inflorescencias de uno de los materiales evaluados en el presente trabajo.



Figura 1. Cultivo de tomate de árbol (*Solanum betaceum*)

2.2. Origen

Según León, Viteri y Cevallos en el año 2004, se ha modificado la concepción de que el tomate de árbol es procedente de la región Andina, principalmente de los países de Ecuador y Perú (Albornoz, 1989). Estas investigaciones han demostrado mediante estudios morfológicos y evidencias moleculares que el tomate de árbol es proveniente de la región boliviana. El tomate de árbol se cultiva en la zona Andina y en Nueva Zelanda. En Nueva Zelanda, donde se lo ha denominado tamarillo, iniciando la exportación de este frutal a la región norte alrededor de 2 décadas (Boyes y Strubi, 1997).



Figura 2. Procedencia y producción de tomate de árbol
Tomado de Otycar s.f.

2.3. Principales zonas de producción del cultivo

Las principales zonas de cultivo de tomate de árbol se encuentran localizadas en: Tungurahua (Pelileo, Patate, Los Andes, Montalvo, Totoras, Baños); Imbabura (Caranqui, San Antonio, Natabuela, Chaltura, Imantag, Pimanpiro, Cahuasquí, Intag); Pichincha (Ascázubi, El Quinche, Checa, Pifo, Puembo, Yaruqui, Tumbaco); Azuay (Sigsig, Bulán, Sevilla de Oro, Palmas); en menor escala se cultiva en el resto de la Sierra y algunos lugares de las estribaciones del Oriente ecuatoriano, donde el cultivo tiene mayores problemas fitosanitarios y productivos por las condiciones como son la alta temperatura y precipitaciones fuertes (Morales, 2001; Feicán, 1999; citados por León et al., 2004).

En la siguiente figura se muestra enumeradas las provincias en el Ecuador con mayor producción del cultivo de tomate de árbol.



Figura 3. Zonas de alta producción del cultivo de tomate de árbol. 1) Imbabura, 2) Pichincha, 3) Tungurahua y 4) Azuay
Adaptado de (MAGAP, 2016).

2.4. Clasificación taxonómica

La clasificación taxonómica del tomate de árbol es la siguiente:

Reino: Vegetal

División: Fanerógama

Subdivisión: Angiosperma

Clase: Dicotiledónea

Orden: Tubiflorales

Familia: Solanaceae

Género: *Solanum* (*Cyphomandra*)

Especie: *betaceum*

Nombre científico: *Solanum betaceum* Cav.

Genotipos: Anaranjado puntón, anaranjado redondo, anaranjado gigante (Soria et al., 2009).

2.5. Condiciones agroclimáticas del cultivo

En el Ecuador el cultivo de tomate de árbol es cultivado en zonas que tienen clima templado o templado frío, altitud entre los 1000 hasta 3000 metros sobre el nivel del mar, siendo el óptimo entre 1500 y 2400 msnm., temperatura que fluctúa de 8 hasta 26 °C, siendo la temperatura óptima entre 18 y 22 °C (Hernández y León, 1994). La humedad relativa óptima es un factor importante a tener en cuenta para la polinización según la referencia Anthurinfo (2016) la misma que debe oscilar entre 70 y 80% y la precipitación de 500 a 2500 mm anuales. Las condiciones óptimas de suelos para el cultivo son de textura franco arenosos con buen drenaje y aireación, que mantengan un pH entre 6 y 7 ligeramente ácido a neutro, Estos suelos deben ser ricos en materia orgánica (> 4%) y que tenga una profundidad de 50 cm. (Morales, 2001; Feicán, 1999; Bazante, 1986; Viera, 2002; Pacheco, 1990; citados por León et al., 2004).

2.6. Descripción botánica

El tomate de árbol es considerado una planta arbustiva que puede alcanzar los 3 metros de altura, presenta tallos semileñosos monopoidales, que se compone de un eje principal que tiene yemas vegetativas en la zona apical que perdura

el crecimiento vegetativo y del cual crecen ramas secundarias. Este frutal presenta follaje grande, las hojas son cordiformes, carnosas y levemente pubescentes. La tonalidad de las flores varía entre el color rosa y lila, las cuales se encuentran agrupadas en racimos terminales, las cuales florecen de manera escalonada. Los frutos pueden encontrarse en grupos o solitarios, presentan colores variables, del amarillo al rojo, tienen forma ovoidal con ápices puntiagudos. Contienen muchas semillas pequeñas que fluctúa entre 120 a 150. La pulpa es de color variable y que fluctúa del color amarillo al anaranjado o al anaranjado rosáceo (Calvo, 2009).

2.6.1. Floración

La floración da inicio luego de los 8 a 10 meses de realizado el trasplante. Se caracteriza por emitir la primera inflorescencia en el extremo apical del tallo. Una vez que aparece la primera inflorescencia, la floración es continua y el número de inflorescencias se relaciona directamente con el número de ramificaciones presentes (Estrada, 2014).

2.6.2. Inflorescencia

Según Acosta basándose en la referencia de Lewis y Considine (1999) y Bohs (1994), las flores presentan forma estrellada, son pentámeras, hermafroditas, y actinomorfas. Los botones florales tienen forma elipsoidal ovoide, con ángulos obtusos a agudos en su ápice.

Las inflorescencias son cimbras escorpioideas y las flores que la componen se distribuyen en doble serie a lo largo de su eje. En la inflorescencia se puede identificar tres partes principales: pedúnculo, raquis y pedicelos, estas partes son moderadamente pubescentes; el pedúnculo y el pedicelo son generalmente péndulos.

Las inflorescencias pueden medir de 2,5 a 15 cm de longitud; el raquis puede medir entre 2 a 8 cm y el pedúnculo oscila entre 1,5 a 9 cm, mientras que los pedicelos presentan una longitud de 1 a 2 cm y cuando ha cuajado el fruto

oscila entre 1,5 a 5,0 cm de longitud. Cada una de las inflorescencias puede contener entre 10 y 50 flores, como menciona Acosta (2011).

El cáliz sinsépalo tiene un radio de 0,3 a 0,5 cm, la longitud de los lóbulos va de 0,1 a 0,2 cm y de 0,2 a 0,3 cm de ancho, con forma obtusa, apiculada y presentan una pubescencia entre ligeramente esparcida muy densa. La corola simpétala se presenta de color rosáceo y tiene un radio de 1 a 1,5 cm; los lóbulos tienen forma triangular entre 0,7 a 1,2 cm de longitud y 0,25 a 0,4 cm de ancho. Presenta cinco estambres de igual longitud, que se insertan en la base de la corola; las tecas son de color amarillo pálido y presentan forma lanceolada, con una longitud de 0,5 a 0,6 cm y un ancho de 0,2 a 0,25 cm. El tejido conectivo presenta una variación de color entre verde y amarillo brillante, de longitud 0,45 a 0,5 cm y ancho de 0,1 a 0,2 cm. El ovario y el estilo son glabros. El estilo es de forma cilíndrica de longitud 0,5 a 0,6 cm y un diámetro entre 0,05 y 0,1 cm. Cada antera contiene un promedio de 793000 granos de polen (Lewis, 1985).

La siguiente figura muestra algunas de las partes más importantes de la flor.

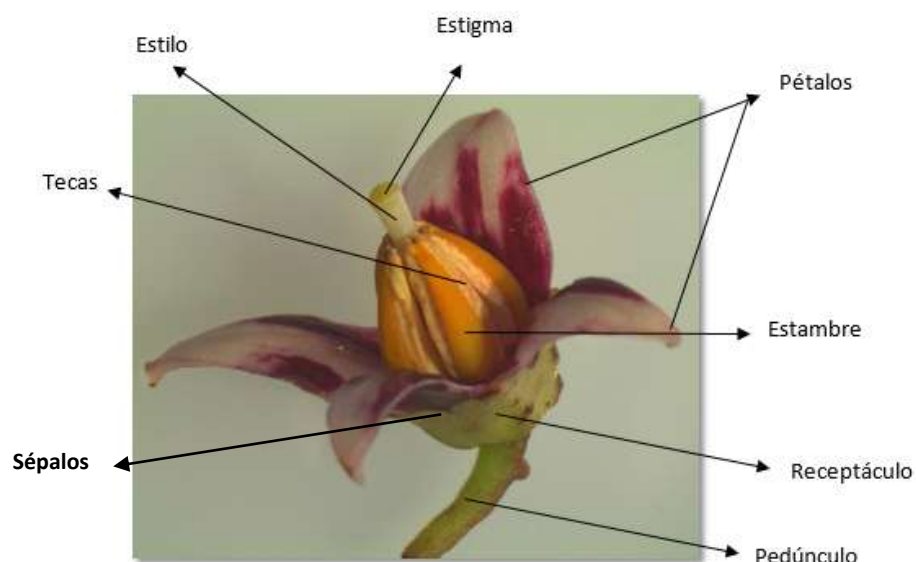


Figura 4. Morfología floral tomate de árbol

2.6.2.1. Gineceo

El gineceo es bicarpelar, tiene dos hojas carpelares soldadas con un solo estilo muy delicado, para la manipulación cuando se emasculan flores con el objeto de realizar cruzamientos. El ovario es súpero, tiene placentación tipo baya, multiseeminada, bilocular como lo indica Albornoz y Morales (1989).

2.6.2.2. Androceo y polen

El androceo se compone de una antera y un filamento como se presenta en la figura 5. A su vez la antera está formada de cuatro tecas y tejido conectivo, dentro de cada teca existe un saco polínico, en el cual se desarrollan los granos de polen. La dehiscencia es poricida (Albornoz y Morales, 2000).

La siguiente figura detalla la estructura interna del androceo y la dehiscencia.

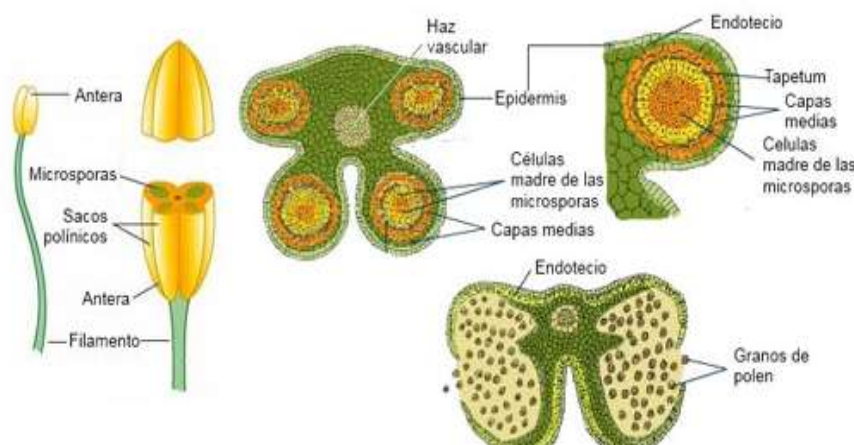


Figura 5. Estructura del androceo de la flor de tomate de árbol
Tomado de Asturnatura, 2004

El centro de cada lóbulo contiene una columna de células denominadas microsporocitos, estas células están rodeadas por un tejido especializado llamado tapetum o tapete, que les provee de nutrientes durante el desarrollo desde el parénquima circundante. Este a su vez rodeado por los tejidos que forman las paredes de la cámara polínica (Salisbury, 2001), como se aprecia en la figura 6.

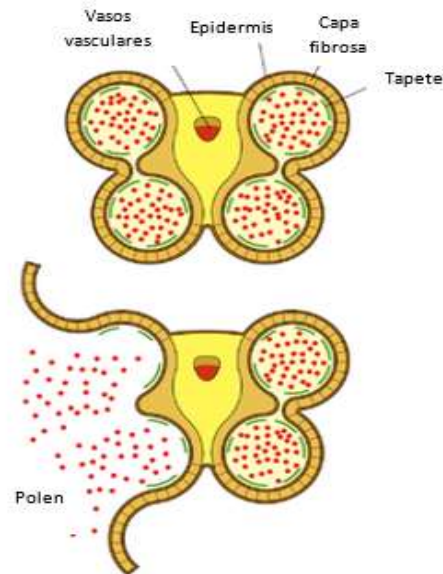


Figura 6. Formación del grano de polen de Solanaceas

Tomado de Asturnatura, 2004

Las células madres de las microsporas, a menudo llamadas células madres del polen, tienen cromosomas $2n$ (diploides) y representan la última etapa de la generación esporofítica, comparable a la célula madre de la megaspora del óvulo. Cada célula madre de la microspora se reduce y produce una tétrada generalmente esférica de microsporas. Las microsporas tienen un cromosoma "n" (haploides) y representan la primera etapa en la generación del gametofito masculino (Cronquist, 2002).

2.6.2.3. Desarrollo de los granos de polen

Las microsporas de una tétrada por lo general se separan entre sí antes de desarrollarse, con poco o ningún aumento en tamaño de los granos de polen. Cada grano de polen es un gametofito masculino joven comúnmente con dos núcleos, los cuales se producen mitóticamente a partir del núcleo de la microspora original. El tubo polínico está formado por el núcleo vegetativo y el núcleo espermático los cuales generan la elongación del tubo polínico (Cronquist, 2002). En la figura 7 se puede observar el desarrollo de los granos de polen que se da lugar en las anteras.

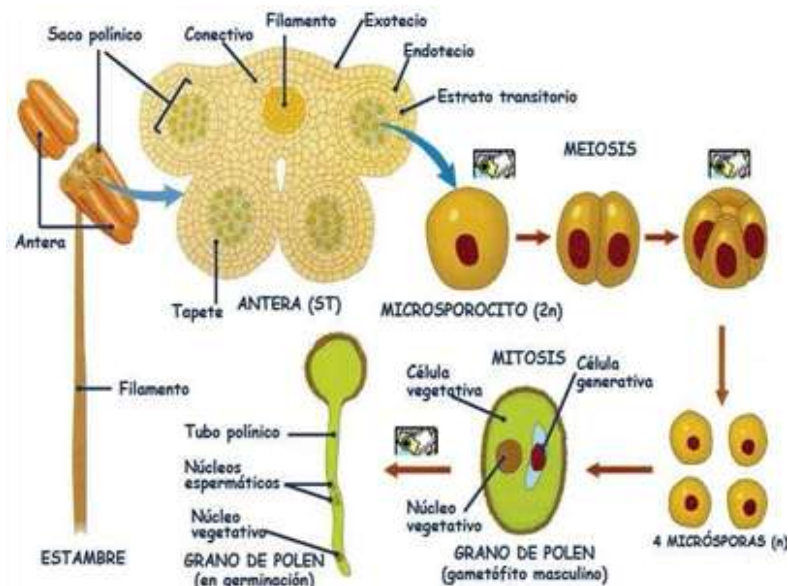


Figura 7. Desarrollo de granos de polen de Solanaceas

Tomado de Sadness, 2013

2.6.2.4. Estructura del grano de polen

El polen es el vehículo natural para transferir los caracteres genéticos de una planta ya que contiene a los gametos masculinos. Los granos de polen están constituidos por dos capas: exina e intina como se muestra en la figura 8, y estas a su vez están constituidas de dos o más subcapas; las cuales engloban a las células germinativas, los núcleos generativos y vegetativos que se encuentran suspendidos en el citoplasma. La protección de todo este contenido está dada por una pared muy resistente, a la que se le denomina esporodermis, la misma que contiene proteínas y enzimas, que son las responsables de las reacciones de incompatibilidad gametofítica que se dan entre el polen y el estigma (Punt, Hoen, Blackmore, Nilsson y Le Thomas, 2007).

Además, el polen presenta varias aberturas en forma circular que conforman los poros germinales en la exina, como se muestra en la figura 8, mediante los cuales atraviesa la intina cuando existe elongación del tubo polínico por la germinación del grano de polen.

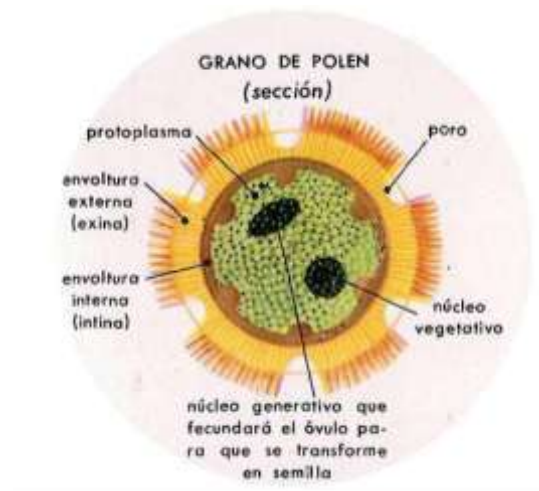


Figura 8. Estructura del grano de polen de Solanaceas

Tomado de *Fisiología vegetal*, 2010

El grano de polen es el gameto masculino de los vegetales. La fina estructura de un grano de polen de las angiospermas tiene dos nucléolos o espermas; los cuales el momento de la fecundación, el uno se fusiona con el núcleo de la ovocélula y el otro con el núcleo de la célula central. Estos espermas son envueltos por las tres capas mencionadas anteriormente (Strasburger et al., 2001).

El grano de polen de muchas especies de Solanaceae es radialmente simétrico, isopolar, alargado, esferoidal, generalmente tricolpado y rara vez tetracolpado (Pack, 2007). A menudo la exina está provista de pequeñas espinas o crestas bajas. Estas y otras variaciones en la estructura de la pared, así como la forma del grano de polen, son características taxonómicas bastante útiles para ser clasificadas (Cronquist, 2002).

2.6.3. Polinización

El proceso de transferencia de los granos de polen hacia el pistilo en las solanáceas, se realiza dentro de la misma flor lo que se conoce como autofecundación, iniciando con la colocación del grano de polen sobre el estigma. El porcentaje de polinización cruzada es mínimo llegando a un 5% y el porcentaje de autofecundación 95%. El polen usualmente es transportado por

insectos, entre ellos las abejas que desempeñan un papel preponderante en la polinización (Cabral et al., 2010).

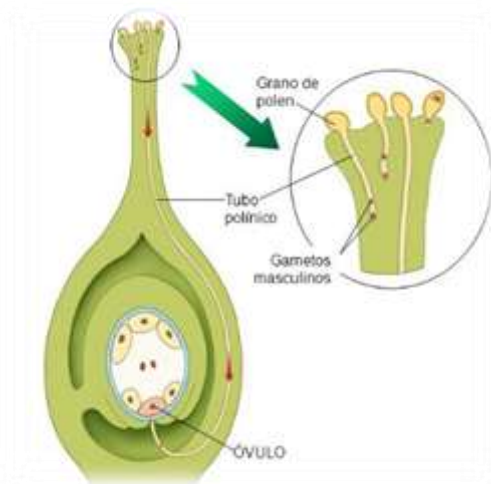
La eficiencia polinizadora de cualquier especie de insectos está relacionada directamente con la biología de la flor y el comportamiento del insecto. Las diferentes especies de flores han desarrollado diversos mecanismos para ser más atractivos a los polinizadores, entre los que se pueden mencionar la modificación de color de pétalos, olores fuertes y agradables, cantidades de néctar, esencias y aceites, facilitando la polinización. Sin embargo, no todo visitante floral es un polinizador eficiente, ya que debe ser atraído naturalmente por las flores, tener un adecuado tamaño para transportar grandes cantidades de polen y sea depositado el mismo en los estigmas de las flores cuando estén receptivas (Nates, 2005). Sin embargo, la presencia de polinizadores no es siempre un factor esencial dentro del sistema productivo del tomate de árbol.



Figura 9. Apertura de tecas en flor de tomate de árbol

2.6.4. Germinación

Las plantas angiospermas requieren el contacto de los granos de polen con el estigma para la reproducción sexual. Si la interacción entre el polen y el estigma es compatible, el grano de polen se hidrata y da inicio a la germinación del mismo, produciéndose la elongación del tubo polínico hasta ingresar al micrópilo dentro del ovario y alcanzar el ovulo para dar inicio a la fecundación como se muestra en la figura 10.



*Figura 10.*Fecundación de Solanáceas

Tomado de Hernández, 2010

3. Capítulo III. Metodología

3.1. Localización del experimento

El desarrollo del estudio se llevó a cabo en la provincia de Pichincha, cantón Quito, parroquia de Tumbaco en la Granja experimental Tumbaco – INIAP. Está ubicada en las coordenadas de latitud y longitud de 12° 55' 0" al Sur y 78° 24' 42.8" al Oeste respectivamente, a 2356 msnm, con una temperatura promedio de 17°C, precipitación anual de 900 mm, el tipo de suelo es franco arenoso (INIAP, 2016).

3.2. Condiciones climatológicas

Las condiciones meteorológicas de la Granja Experimental Tumbaco - INIAP, donde se desarrolló la investigación, se puede observar en la tabla 1.

Tabla 1.

Condiciones meteorológicas Granja Experimental Tumbaco INIAP, durante el periodo del estudio.

Fecha	Temperatura °C	Humedad Relativa %	Precipitación mm	Radiación Solar W/m²
dic-15	18,10	34,33	0.00	2,40
ene-16	17,80	50,08	0,05	2,08
feb-16	18,36	45,77	0,02	1,95
mar-16	17,65	56,50	0,04	1,76
abr-16	17,98	46,67	0,03	2,05
may-16	17,62	47,12	0,03	1,96

Nota: Estación meteorológica Granja Experimental Tumbaco - INIAP

3.3. Materiales y equipos

Los materiales utilizados en la fase de campo y laboratorio se los describe en la Tabla 2.

Tabla 2.

Materiales y equipos utilizados en el estudio

Materiales	Cantidad
Material biológico segregantes de tomate de árbol en producción	5
Ácido bórico (ml)	
Sacarosa cristal (g)	
Tween 20 (ml)	20
Agua destilada (l)	3
Ácido acético glacial al 99,9% (ml)	100
Carmín (g)	2
Yodo I ₂ (g)	1
Yoduro de potasio KI (g)	1
Etanol al 70% (ml)	100

Balanza digital (uds)	1
Cajas petri plásticas (uds)	150
Papel filtro (cajas)	3
Micropipeta 100 ul (uds)	1
Micropipeta 1000 ul (uds)	1
Porta objetos (cjs)	6
Cubre objetos (cjs)	3
Polen de tomate de árbol (g)	15
Tubos eppendorf (uds)	150
Silica gel (g)	450
Probeta de 50 y 20 ml (uds)	2
Equipos	
Microscopio óptico Olympus con cámara de fotos (uds)	1
Computador (uds)	1

3.4. Métodos

3.4.1 Apertura floral (DF)

Con el fin de conocer la viabilidad y germinación del grano de polen se realizó un ensayo en el que se evaluó en 3 estados fenológicos de la apertura floral de acuerdo a lo que se describe en la tabla 3.

3.4.2 Análisis estadístico

El Diseño Experimental utilizado para evaluar la calidad del polen en base a la apertura de la flor fue Completamente al Azar con 5 observaciones. En la tabla 3 se presenta los tratamientos estudiados, y en la tabla 4 se presenta el esquema de varianza.

Tabla 3

Calidad del polen de los tratamientos según los estados fenológicos de la apertura floral de tomate de árbol.

Descripción	Simbología (DF)
Día previo a la antesis D0	DF ₀
Día de la antesis D1	DF ₁
Día posterior a la antesis D2	DF ₂

Tabla 4

Esquema del análisis de varianza de los estadios fenológicos de apertura de la flor de los segregantes de tomate de árbol.

Fuentes de Variación	Grados de libertad
Total	14
Tratamientos	2
Error experimental	12

En caso de existan diferencias estadísticas entre tratamientos, se realizará la separación de medias utilizando la prueba de Tukey al 5%

3.4.2. Calidad del polen de los segregantes de tomate de árbol.

Para conocer la calidad del grano de polen de los segregantes, se realizó un ensayo en el que se evaluó viabilidad y germinación de los 5 materiales en los 3 estados fenológicos de la apertura floral de acuerdo a lo que se describe en la tabla 14.

Análisis estadístico.

El estudio se realizó a través de un Diseño Completamente al Azar con 5 tratamientos y 5 repeticiones.

Tabla 5.

Esquema del análisis de varianza de los estadios fenológicos de apertura de la flor de 5 segregantes de tomate de árbol.

Fuentes de Variación	Grados de libertad
Total	24
Tratamientos	4
Error experimental	20

El análisis funcional para tratamientos se realizó considerando la prueba de separación de medias de Tukey al 5%.

3.4.3. Análisis de la calidad del polen del tomate de árbol en función de los segregantes, temperaturas y periodos de almacenamiento.

3.4.3.1 Análisis estadístico.

Una vez determinada la mayor viabilidad del polen respecto a la fenología de la apertura floral, se procedió a realizar el estudio, utilizando un Diseño Completamente al Azar en arreglo factorial 5 x 2 x 6 con 5 repeticiones. Los factores se detallan a continuación.

3.4.4 Factores en estudio

3.4.4.1 Factor 1. Segregantes

Los cinco segregantes estudiados, fueron seleccionados por la calidad del fruto, rendimiento y disponibilidad de flores que presentaban las plantas al momento de iniciar la investigación. En la tabla 6 detalla la información de cada segregante utilizado en el presente trabajo.

Tabla 6.

Segregantes de tomate de árbol utilizados en el estudio

Simbología	Descripción
PTA ₁ : GT9 P18	GT9 planta 18
PTA ₂ : GT20 P2	GT20 planta 2
PTA ₃ : GT20 P7	GT20 planta 7
PTA ₄ : GT33 P2	GT33 planta 2
PTA ₅ : GT33 P5	GT33 planta 5

Nota: (PTA_{N°}) = Segregante de tomate de árbol

3.4.4.2 Factor 2. Período de almacenamiento del polen (d)

En la tabla 6 se presenta los períodos de almacenamiento de los granos de polen previo a la evaluación de la viabilidad y germinación. El almacenamiento del polen fue inmediatamente después de la colecta del mismo.

Tabla 7.

Período de almacenamiento de polen de tomate de árbol.

Simbología(d:día)	Período de almacenamiento (d)
d ₁	0 (8 horas)
d ₂	5
d ₃	10
d ₄	20
d ₅	30
d ₆	45

3.4.4.3 Factor 3. Temperatura de almacenamiento (T)

Se consideró dos temperaturas de almacenamiento de los granos de polen previo a las pruebas de germinación y viabilidad, como se detalla en la tabla 8.

Tabla 8.

Temperaturas de almacenamiento de los granos de polen de tomate de árbol.

Simbología (T: temperatura)	Temperatura almacenamiento (° C)
T ₁	4
T ₂	22

Tabla 9.

Características del experimento para estudiar la viabilidad y germinación del tomate de árbol

Número de Tratamientos	60
Número de Observaciones	5
Número de Unidades Experimentales	300
Unidad experimental(granos de polen)	250

3.4.5 Tratamientos en estudio

En la tabla 10 se presenta los 60 tratamientos estudiados que provienen de la multiplicación de los niveles de cada factor.

Tabla 10.

Descripción de los tratamientos en estudio por la combinación de los 3 factores.

TRATAMIENTOS	DESCRIPCION (segregante + temperatura + período)
t₁	GT9P18 + 4°C+ 0 días
t₂	GT9P18 + 4°C+ 5 días
t₃	GT9P18 + 4°C+ 10 días
t₄	GT9P18 + 4°C+ 20 días
t₅	GT9P18 + 4°C+ 30 días
t₆	GT9P18 + 4°C+ 45 días
t₇	GT9P18 + 22°C+ 0 días
t₈	GT9P18 + 22°C+ 5 días
t₉	GT9P18 + 22°C+ 10 días
t₁₀	GT9P18 + 22°C+ 20 días
t₁₁	GT9P18 + 22°C+ 30 días
t₁₂	GT9P18 + 22°C+ 45 días
t₁₃	GT20P2 + 4°C+ 0 días
t₁₄	GT20P2 + 4°C+ 5 días
t₁₅	GT20P2+ 4°C+ 10 días
t₁₆	GT20P2 + 4°C+ 20 días
t₁₇	GT20P2+ 4°C+ 30 días
t₁₈	GT20P2+ 4°C+ 45 días
t₁₉	GT20P2 + 22°C+ 0 días
t₂₀	GT20P2 + 22°C+ 5 días
t₂₁	GT20P2 + 22°C+ 10 días
t₂₂	GT20P2 + 22°C+ 20 días
t₂₃	GT20P2 + 22°C+ 30 días
t₂₄	GT20P2 + 22°C+ 45 días
t₂₅	GT20P7 + 4°C+ 0 días
t₂₆	GT20P7 + 4°C+ 5 días
t₂₇	GT20P7+ 4°C+ 10 días

t₂₈	GT20P7 + 4°C+ 20 días
t₂₉	GT20P7+ 4°C+ 30 días
t₃₀	GT20P7+ 4°C+ 45 días
t₃₁	GT20P7 + 22°C+ 0 días
t₃₂	GT20P7 + 22°C+ 5 días
t₃₃	GT20P7 + 22°C+ 10 días
t₃₄	GT20P7 + 22°C+ 20 días
t₃₅	GT20P7 + 22°C+ 30 días
t₃₆	GT20P7 + 22°C+ 45 días
t₃₇	GT33P2 + 4°C+ 0 días
t₃₈	GT33P2 + 4°C+ 5 días
t₃₉	GT33P2+ 4°C+ 10 días
t₄₀	GT33P2 + 4°C+ 20 días
t₄₁	GT33P2+ 4°C+ 30 días
t₄₂	GT33P2+ 4°C+ 45 días
t₄₃	GT33P2 + 22°C+ 0 días
t₄₄	GT33P2 + 22°C+ 5 días
t₄₅	GT33P2 + 22°C+ 10 días
t₄₆	GT33P2 + 22°C+ 20 días
t₄₇	GT33P2 + 22°C+ 30 días
t₄₈	GT33P2 + 22°C+ 45 días
t₄₉	GT33P5 + 4°C+ 0 días
t₅₀	GT33P5 + 4°C+ 5 días
t₅₁	GT33P5+ 4°C+ 10 días
t₅₂	GT33P5 + 4°C+ 20 días
t₅₃	GT33P5+ 4°C+ 30 días
t₅₄	GT33P5+ 4°C+ 45 días
t₅₅	GT33P5 + 22°C+ 0 días
t₅₆	GT33P5 + 22°C+ 5 días
t₅₇	GT33P5 + 22°C+ 10 días
t₅₈	GT33P5 + 22°C+ 20 días

t₅₉	GT33P5 + 22°C+ 30 días
t₆₀	GT33P5 + 22°C+ 45 días

3.4.6 Esquema del Análisis de Varianza

Se utilizó el esquema de Análisis de Varianza ANOVA, el cual se detalla en la tabla 11, para la evaluación de la funcionalidad del polen de tomate de árbol.

Tabla 11.

Análisis de varianza para DCA en arreglo factorial 5 x 2 x 6 con cinco repeticiones.

F de V	gl
Total	299
Material	4
Temperatura	1
Almacenaje	5
Material x Temperatura	4
Material x Almacenaje	20
Temperatura x Almacenaje	5
Material x Temperatura x Almacenaje	20
Error	240

CV (%) 3,00 n= 300 observaciones

3.4.7 Análisis funcional

Para las variables donde existieron diferencias estadísticas se utiliza la prueba de separación de medias Tukey 5%. Se realizó el análisis de varianza utilizando el paquete estadístico INFOSTAT versión estudiantil 2014.

3.4.8 Variables evaluadas

A continuación, se detallan las variables seleccionadas para la evaluación del presente estudio.

3.4.8.1 Germinación del polen (%)

La unidad experimental para el análisis de germinación, fue una caja petri con 70 ul de dilución del medio de germinación del polen con yodo. Se colocó 250 granos de polen aproximadamente en la caja petri. El yodo se utilizó para la tinturación de los granos de polen.

Se contabilizó en dos campos visuales del microscopio (10X y 40X). Se consideró granos de polen germinados a los que presentaron el tubo polínico con una longitud mayor o igual al diámetro de polen. Para determinar el porcentaje de germinación se utilizó la ecuación 1, que se indica a continuación.

$$\text{Germinación (\%)} = \frac{\text{granos germinados}}{\text{granos totales}} * 100 \quad (\text{Ecuación 1})$$

3.4.8.2 Viabilidad del polen (%)

La unidad experimental para la prueba de viabilidad, fue una caja petri, sobre la cual se colocó 70 ul de dilución de tinte de acetocarmín, en el que se colocaron con 250 granos de polen aproximadamente.

Se registró la viabilidad del polen en dos campos visuales del microscopio (10X y 40X). Se consideró polen viable a los granos que no presentaron deformaciones y tenían una tinción intensa. El cálculo de la viabilidad se realizó en base a la ecuación 2 que se presenta a continuación.

$$\text{Viabilidad (\%)} = \frac{\text{granos viables}}{\text{granos totales}} * 100 \quad (\text{Ecuación 2})$$

3.4.9 Manejo del experimento

En esta sección se detalla las diferentes actividades que se realizaron para la evaluación de la germinación y viabilidad del polen de tomate de árbol de acuerdo a los objetivos planteados.

Se utilizó 5 segregantes de tomate de árbol (*Solanum betaceum Cav.*), seleccionados entre 15 segregantes en base a características agronómicas y de rendimiento por la granja experimental Tumbaco – INIAP.

3.4.9.1 Recolección de granos de polen

La recolección de las flores se realizó en horas de la mañana a partir de las 8h00 a 10h00, previo a la antesis. Las flores fueron seleccionadas acorde al día de apertura floral: Día 0 (día previo a la antesis), Día 1 (día de la antesis) y Día 2 (día posterior a la antesis).

Se recolectó las flores según la apertura floral y se los puso en cajas petri.

Se llevaron las cajas petri con las flores, al laboratorio para ser extraído el polen.

El polen en la tapa de la misma caja petri que las contiene, cortando las puntas de las anteras y con la ayuda de un pincel se golpeó suavemente las anteras para que caiga el polen existente en las mismas.

Una vez que se extrajo la totalidad del polen, con la ayuda de un pincel se recogió y se lo colocó en un tubo eppendorf, el mismo que se rotuló con la siguiente información: segregante, fecha de extracción, día de apertura floral y temperatura de almacenamiento.

El polen que se almacenó a 22 °C, fue colocado el tubo eppendorf abierto y se introdujo en un frasco pequeño que contenía 3 g de silica gel. Este se cerró y se identificó con tapa de color acorde al día de la apertura floral al que pertenece el polen. Luego se colocó dentro de la incubadora hasta ser utilizado la evaluación de acuerdo a lo planificado.

El polen almacenado a 4 °C, fue colocado en el tubo eppendorf y cerrado, se introdujo en un frasco identificado con tapa de color acorde al día de apertura floral al que pertenece el polen. Luego se lo colocó dentro del refrigerador hasta ser utilizado la evaluación de acuerdo a lo planificado.

3.4.9.2 Preparación del medio de germinación

Para la germinación se utilizó un medio, compuesto por ácido bórico 200 ppm (sacarosa cristal). Para preparar 20 ml de medio de germinación se colocó en una probeta de 50 ml, 1 ml de ácido bórico 200 ppm, 4 g de sacarosa cristal marca J. T. Baker, 40 ul de Tween 20. Se aforó con agua destilada a 20 ml, agitando la probeta hasta que la solución este completamente homogénea. Se traspasó la solución a un tubo de ensayo con tapa rosca, etiquetándolo

previamente (Medio composición, día de elaboración). Se almacenó a temperatura ambiente el polen para ser utilizado en la siembra y realizar las pruebas de germinación.

3.4.9.3 Preparación de yoduro de potasio (Lugol)

La solución de yoduro de potasio se disolvió 1 g de I_2 y 1g de KI en 100 ml de etanol al 70% y se almacenó en un frasco ámbar a temperatura ambiente.

3.4.9.4 Preparación del tinte acetocarmín

El gel acetocarmín, se lo obtuvo a partir de 100 ml de ácido acético glacial al 99,9%, al que se adicionó 2 g de Carmín, esta mezcla se sometió a 95 °C, la misma que se llevó a punto de ebullición para que sea homogénea, este proceso se realizó dentro de una campana de extracción de gases, ya que estos son nocivos. La mezcla se tamizó con papel filtro, luego se añadió la misma cantidad de glicerina (60 ml) y se traspasó a un frasco color ámbar y se almacenó en un lugar cubierto a temperatura ambiente (Ordoñez, 2014).

3.4.9.5 Siembra de placas para germinación

Se colocó en la base de la caja petri un portaobjeto y sobre el mismo se colocó 60 ul de medio de germinación líquido preparado el mismo día de la siembra.

Con un palillo se tomó una muestra de polen de un tubo eppendorf y se colocó sobre el medio de germinación y se esparció el polen realizando movimientos circulares y en zigzag, para que el polen esté esparcido por todo el medio.

En la tapa de la misma caja petri se colocó un papel filtro, en el que se esparció 1,5 ml de agua destilada, formando una cámara húmeda, permitiendo mantener el medio líquido, a la vez facilitando la hidratación de los granos de polen. Se colocó la tapa con el papel filtro humedecido, sobre la base de la caja petri que contiene un porta objetos con el polen en el medio de germinación.

Se rotuló cada placa con la siguiente información, día de apertura floral, día de almacenamiento, día de siembra, temperatura de almacenamiento y repetición. Se colocaron las cajas petri previamente rotuladas en la incubadora a

temperatura de 22°C, por diferentes tiempos acorde al tiempo de almacenamiento del polen.

3.4.9.6 Siembra de placas para viabilidad

Se colocó en el medio de un portaobjeto, 60 ul de tinte acetocarmín. Sobre este se colocó una muestra de polen extraída de un tubo eppendorf con un palillo y se procedió a esparcir el polen realizando movimientos circulares y en zigzag por todo el tinte acetocarmín.

Se rotularon las placas portaobjeto con la fecha, día de apertura floral, fecha de siembra, día de almacenamiento, temperatura de almacenamiento, número de observación.

Se colocó sobre el mesón del laboratorio las placas por 24 horas y luego se procedió a la lectura.

3.4.9.7 Observación al microscopio de las placas germinadas

Luego de haber transcurrido el tiempo de incubación, se sacaron las cajas petri de la incubadora y sobre el medio de germinación se colocaron 20 ul de solución lugol para tinturar los granos de polen.

Se observó en el microscopio enfocando a 10X y 40X de ampliación. Los granos de polen germinados y no germinados fueron contados dando un total mínimo de 250 granos de polen en los dos campos de conteo 10X y 40X. El conteo se realizó con un contador manual, se evidencio la elongación del tubo polínico mediante fotografías. Se considera como grano de polen germinado a la elongación del tubo polínico que tiene de medida mayor o igual diámetro al del grano de polen.

3.4.9.8 Observación al microscopio placas viables

Luego de pasadas 24 horas las placas se observaron al microscopio y se visualizó cada una de ellas a 10X y 40X de ampliación, evidenciando la viabilidad mediante la toma de fotografías.

La cantidad mínima de granos de polen contados de 5 a 10 campos fue de 250 granos de polen, determinando así la cantidad de granos viables, y de los granos no viables, mediante un contador manual.

Los granos de polen viables presentaron coloración violeta total e intensa, mientras los granos de polen no viables no fueron pigmentados en su totalidad.

4. Capítulo IV. Resultados y Discusión

4.1 Apertura floral

Los resultados del estudio se presentan organizados en la tabla 11 y 12 por cada variable a través del ADEVA y cuando se presentan diferencias estadísticas se realiza el análisis funcional a través de Tukey al 5%.

En la tabla 12 se presenta el análisis de varianza del porcentaje de germinación y viabilidad del polen de los segregantes considerando los 3 estadios de apertura floral, donde no se encuentran diferencias significativas. Los altos coeficientes de variación se deben a la variabilidad encontrada entre los materiales para las variables porcentaje de germinación y viabilidad de granos de polen de tomate de árbol, que se están evaluando.

Tabla 12.

Análisis de varianza de la germinación y viabilidad de 3 estados fenológicos de la apertura floral de tomate de árbol.

F.V.	gl	Germinación (%)		Viabilidad (%)	
		SC	CM	SC	CM
Total	14	4537,56		4495.56	
Apertura floral	2	162,95	81,47 ns	705.95	352.98ns
Error experimental	12	4374,61	364,55	3789.61	315.80
n = 15 observaciones		CV (%)= 150,4		CV (%)= 175,4	

A pesar de no encontrarse diferencias estadísticas en germinación y viabilidad entre los tres períodos de apertura floral (D0, D1 y D2), se observó que el día de apertura floral D0 es el que presentó porcentajes superiores de germinación y viabilidad, frente a los otros períodos de apertura de la flor, por tanto, para el estudio del efecto de los 3 factores que inciden en la calidad de la del polen se consideró el día de apertura floral D0.

En la tabla 13 se presenta el análisis de varianza del porcentaje de germinación y viabilidad de los 5 segregantes estudiados, donde se pudo observar que existió diferencias estadísticas entre los segregantes y los coeficientes de variación.

Tabla 13.

Análisis de varianza para el porcentaje de germinación y viabilidad de cinco segregantes en tres estados fenológicos de la apertura floral de tomate de árbol.

F.V.	gl	Previo a la antesis (D0)		Antesis (D1)		Posterior antesis (D2)	
		SC	CM	SC	CM	SC	CM
Total	24	8730,92		7426,28		5885,11	
Segregantes	4	8674,49	2168,62**	7376,43	1844,11**	5821,56	1455,4**
Error experimental	20	56,43	2,82	49,85	2,49	63,55	3,18
n = 15 observaciones		CV (%)= 9,8		CV (%)= 13,8		CV (%)= 18,8	

La tabla 14, se determinó que existen diferencias estadísticas entre segregantes frente a los días de apertura floral D0, D1 y D2.

En la tabla 13 se presenta el cuadro de separación de medias del porcentaje de germinación y viabilidad de los granos de polen por segregante evaluado frente a los días de apertura floral D0, D1 y D2.

Tabla 14.

Cuadro de separación de medias de la germinación (%) y viabilidad (%) referente a los segregantes de tomate de árbol. Tumbaco. 2017.

Material	Germinación	Germinación	Germinación	Viabilidad	Viabilidad	Viabilidad
	D0	D1	D2	D0	D1	D2
GT33P2	51,57 ± 0,24a	44,84 ± 0,21 a	39,49 ± 0,20a	55,18 ± 0,22 a	44,88 ± 0,21 a	48,78 ± 0,21a
GT20P7	18,31 ± 0,10 a	10,63 ± 0,07 b	7,29 ± 0,04 b	17,63 ± 0,11 b	10,07 ± 0,04 b	7,00 ± 0,04 b
GT33P5	14,90 ± 0,08 c	1,04 ± 0,02 c	0,16 ± 0,003 c	14,97 ± 0,08 b	0,08 ± 0,01c	0,23 ± 0,002 c
GT9P18	1,02 ± 0,01 d	0,24 ± 0,002c	0,24 ± 0,002 c	1,56 ± 0,01 c	0,03 ± 0,002c	0,32 ± 0,002 c
GT20P2	0,32 ± 0,01 d	0,24 ± 0,003 c	0,16 ± 0,002 c	0,17 ± 0,01 c	0,02 ± 0,002 c	0,08 ± 0,002 c

La tabla 14, se indica que en la evaluación del porcentaje de germinación y viabilidad de cada segregante frente a los días de apertura floral, el material que se ubica en el primer rango de significancia para el porcentaje de germinación y viabilidad es el material GT33P2 el cual corresponde al material comercial amarillo puntón. En la misma tabla se puede apreciar que el porcentaje de germinación y viabilidad es mayor en el día de apertura floral D0 que en los días de apertura floral D1 y D2, por lo que se vuelve a reiterar la utilización de los datos obtenidos del día de apertura floral D0 para generar los resultados del presente estudio.

Además en la tabla 13 se presenta diferencias significativas de los segregantes evaluados con respecto a los días de apertura floral lo que permite evidenciar que la calidad del polen recolectado varía de acuerdo al día de apertura floral en el que fue recolectado, indicando en este caso que el día óptimo para la recolección fue el día previo a la antesis.

En la figura 11, se establece la comparación del porcentaje de germinación y viabilidad del grano de polen en los 3 estados fenológicos de apertura floral obteniendo como mejor resultado los granos de polen obtenidos en el día previo a la antesis (D0), para el desarrollo del presente estudio, ya que los

porcentajes de germinación del polen fueron los más altos comparados con las otras fases del desarrollo floral.

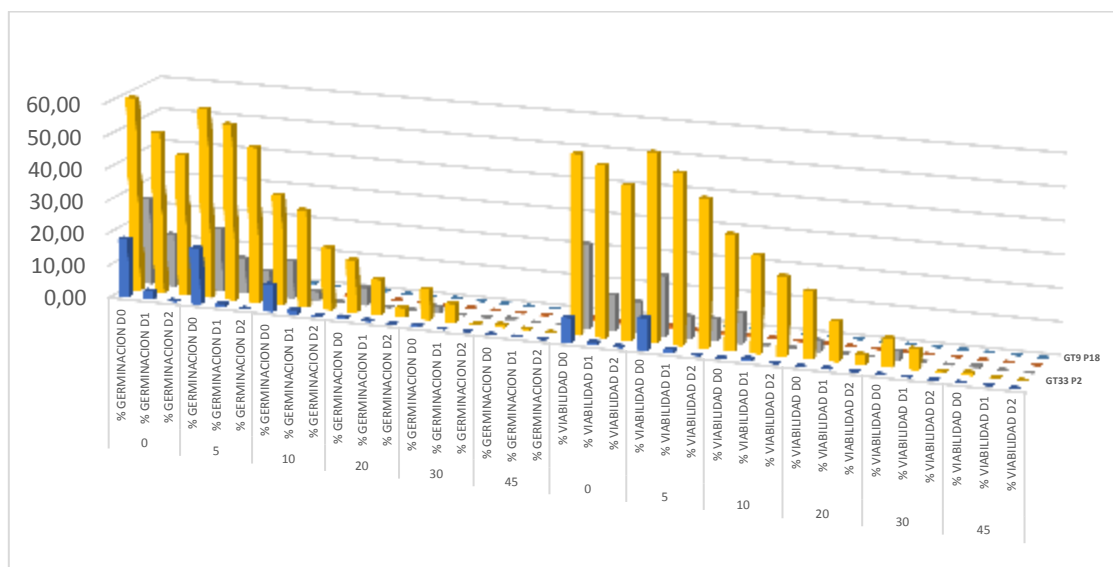


Figura 11. Relación entre días de apertura floral D0, D1 y D2 para germinación y viabilidad de tomate de árbol.

4.2. Germinación de los granos de polen.

En la tabla 15, se presenta el análisis de varianza de la germinación de los granos de polen obtenidos en fase de apertura de la flor (D0: día previo a la antesis) y sometidos a los diferentes factores como son la temperatura, tiempo de almacenamiento y segregantes y las interacciones. El análisis de varianza permitió detectar un efecto de los diferentes tipos de materiales, la temperatura y el período de almacenamiento en la germinación del polen, así como también las interacciones de primer y segundo orden. Estos resultados permiten aceptar la hipótesis alternativa y rechazar la hipótesis nula.

Se puede indicar que las condiciones dadas en el laboratorio para el estudio han sido positivas, pues el coeficiente de variación para la prueba de germinación fue de 18,2%.

Tabla 15

ANOVA para la germinación de los granos de polen de cinco segregantes de tomate de árbol a las 24 horas antes de la dehiscencia de la flor.

F.V.	gl	Sc	CM	Fc
Total	299	78658,93		
Material	4	34713,30	8678,33	2695,47**
Temperatura	1	14,13	14,13	4,39
Almacenaje	5	20371,09	4074,22	1265,44 **
Material x Temperatura	4	282,51	70,63	21,94 **
Material x Almacenaje	20	20629,76	1031,49	320,38 **
Temperatura x Almacenaje	5	1140,14	228,03	70,82 **
Material x Temperatura x Almacenaje	20	735,30	36,77	11,42 **
Error	240	772,70	3,22	
CV (%)= 18,18 n = 300 observaciones				

A partir de estos resultados se puede utilizar con certeza el polen obtenido de los segregantes en el día de apertura floral, previa a la antesis.

El porcentaje medio de germinación para los cinco segregantes escogidos se sometió a la prueba Tukey al 5%, y se obtuvieron cuatro rangos de significancia. La tabla 16 presenta estos resultados, ubicando en el primer rango al segregante comercial amarillo puntón, GT33P2, con 29,83% de germinación, en el segundo rango está el material GT22P7 con 10,91% de germinación, en el tercero al segregante GT33P7 con 7,51% de germinación y en el cuarto rango a los materiales GT9P18 y GT20P2 con porcentajes de germinación más bajos 0,64 y 0,48% respectivamente, los cuales fueron obtenidos de la cruza y retrocruces entre [(*S. unilobum* x *S. betaceum*) x *S. betaceum*] x *S. betaceum*, realizados por el programa de Fruticultura del INIAP.

Tabla 16.

Promedios, desviación estándar y prueba de Tukey ($\leq 0,05\%$) de la germinación de cinco segregantes de tomate de árbol.

Material	Germinación (%)
GT33P2	29,8 \pm 0,237 a
GT20P7	10,9 \pm 0,104 b
GT33P5	7,5 \pm 0,084 c
GT9P18	0,6 \pm 0,014 d
GT20P2	0,5 \pm 0,009 d

Acorde a lo que indica Reveloet al., 2004 el tomate comercial amarillo gigante puntón y el híbrido tomate mora presentan un mayor número de frutos cuajados por inflorescencia, que varía de cuatro hasta seis frutos. Esto posiblemente se debe a que el polen de estos materiales tiene una viabilidad y capacidad germinativa superior en comparación a los otros materiales.

En la tabla 17 se presenta la germinación del polen después de almacenar a dos temperaturas, y se determinó la existencia de dos rangos de significancia, obteniendo una mejor germinación a 4 °C con 10,0% que a 22 °C con 9,7 % de germinación.

Tabla 17.

Promedios, desviación estándar y prueba de Tukey ($\leq 0,05\%$) de la germinación en dos temperaturas de almacenamiento de polen de tomate de árbol.

Temperatura (°C)	Germinación (%)
4	10,0 \pm 0,175 a
22	9,7 \pm 0,149 b

Se concluye en términos generales, que la temperatura de almacenamiento del polen influye significativamente en la germinación. De acuerdo a esto se establece que la mejor temperatura para almacenaje del polen, es la

temperatura de 4 °C. Esto concuerda con los resultados obtenidos por Gonzales; *et al.*, (2002) quienes reportan que la viabilidad y germinación de polen de *Solanaceae*, conservado a una temperatura de 17°C pierde la capacidad de germinación rápidamente, pero si el polen se almacena a 4°C por un periodo de 15 días de almacenamiento el porcentaje se mantuvo en un 18% de germinación.

En cuanto al tiempo de almacenamiento (Tabla 18), se pudo ver que el tiempo de almacenamiento influye en el porcentaje de germinación del polen. El porcentaje de germinación de polen evaluado en seis periodos de almacenaje generó seis rangos de significación, donde el mayor porcentaje corresponde a los cero días de almacenamiento, seguido del de cinco días y así sucesivamente, hasta que a los 45 días se presentó el menor porcentaje de germinación del polen con menos del 1 %.

Tabla 18.

Promedios, desviación estándar y prueba de Tukey ($\leq 0,05\%$) de la germinación de tomate de árbol en seis periodos de almacenamiento.

Almacenaje (días)	Germinación (%)
0 (8 horas)	21,60 ± 0,225 a
5	19,46 ± 0,214 b
10	11,00 ± 0,128 c
20	4,52 ± 0,067 d
30	2,38 ± 0,039 e
45	0,28 ± 0,006 f

De acuerdo a esto, se establece que el utilizar el polen pasado ocho horas de obtenida la flor, es el que presentó el mayor porcentaje de germinación con 21,60%, esto concuerda con los datos obtenidos por Aramendiz et al.,2012 quienes sostienen que a 8 horas de almacenaje se obtuvo un 49,42% de germinación de polen en Berenjena (*Solanum melongena*), recomendando que

el período de almacenaje no supere las veinticuatro horas, por otro lado, la época 45 días de almacenaje es la que menor porcentaje de germinación presenta con 0,28%, esto es corroborado por Aramendiz (2012).

Como se presenta en la figura 12 el periodo de almacenamiento de 0 días es el que presenta mayor porcentaje de germinación.



Figura 12. Granos de polen del material GT33P2, germinados del periodo 0 de almacenamiento.

Finalmente, en la tabla 19 se presentan los porcentajes de germinación relacionados con la temperatura de almacenamiento para cada material vegetativo analizado, de lo cual se generaron cinco rangos de significancia según la prueba Tukey al 5%, lo que garantiza la diferencia entre los cinco segregantes y estableciendo como el mejor según esta prueba el material cuatro (GT33P2).

Tabla 19.

Promedios, desviación estándar y prueba de Tukey ($\leq 0,05\%$) de la germinación de la interacción entre los materiales de tomate de árbol con la temperatura de almacenamiento.

Material	Germinación (%)	Germinación (%)
	a 4°C	a 22°C
GT33P2	27,79 \pm 0,218 b	31,87 \pm 0,256 a
GT20P7	11,09 \pm 0,083 c	10,72 \pm 0,124 c
GT33P5	8,37 \pm 0,084 d	6,66 \pm 0,085 e
GT9P18	0,59 \pm 0,006 f	0,68 \pm 0,019 f
GT20P2	0,44 \pm 0,006 f	0,51 \pm 0,011 f

El material comercial GT33P2, cuyo polen fue almacenado a 4°C y 22°C respectivamente, muestra el mayor porcentaje de germinación con 27,8 31,9%. Estos resultados concuerdan con lo expuesto por Revelo et al., (2004) quien indica que el material comercial amarillo gigante puntón presenta un mayor número de frutos cuajados por inflorescencia.

4.3 Porcentaje de viabilidad del polen

La tabla 20 muestra un cuadro de análisis de varianza donde se toma en cuenta las medias del porcentaje de viabilidad de los granos de polen obtenidos en el día previo a la anthesis de cinco materiales de tomate de árbol, a 2 temperaturas y 6 periodos de almacenamiento. En esta tabla se muestra además el efecto de las interacciones de los tratamientos material x temperatura, material x almacenaje, temperatura x almacenaje, y material x temperatura x almacenaje. El coeficiente de variación para la prueba de viabilidad fue del 18,97%.

Tabla 20.

ANOVA para la viabilidad del polen de seis segregantes de tomate de árbol.

F.V.	gl	Sc	CM	Fc
Total	299	73701,33		
Material	4	36138,70	9034,68	3380,12 **
Temperatura	1	293,63	293,63	109,86 **
Almacenaje	5	14512,01	2902,40	1085,87 **
Material x Temperatura	4	353,26	88,31	33,04 **
Material x Almacenaje	20	19267,44	963,37	360,42 **
Temperatura x Almacenaje	5	364,43	73,49	27,49 **
Material x Temperatura x Almacenaje	20	2127,37	106,37	39,80 **
Error	240	73701,33		

CV (%)= 18,97 n = 300 observaciones

El porcentaje de viabilidad para los cinco segregantes escogidos se sometió a la prueba Tukey al 5% y se produjeron cuatro rangos de significancia, tal como se muestra en la tabla 21, ubicando en el primer rango el material GT33P2 con un porcentaje de viabilidad de 29,43% que corresponde al material comercial amarillo puntón, en el segundo rango al material GT20P7 con 9,25 y en el cuarto rango a los materiales GT9P18 y GT20P2 con 0,49% y 0,36% de viabilidad respectivamente, materiales que son el resultado de las cruzas y retrocruzas entre [(*S. unilobum* x *S. betaceum*) x *S. betaceum*] x *S. betaceum*.

Tabla 21.

Promedios, desviación estándar y prueba de Tukey ($\leq 0,05\%$) de la viabilidad de cinco segregantes de tomate de árbol.

Material	Media
GT33P2	29,43 ± 0.219 a
GT20P7	9,25 ± 0.105 b
GT33P5	2,87 ± 0.066 c
GT9P18	0,49 ± 0.010 d
GT20P2	0,36 ± 0.006 d

En la tabla 22 se presenta la viabilidad del polen a dos temperaturas de almacenamiento, mostrando dos rangos de significancia, la mayor viabilidad del polen fue a los 4 °C, que a 22 °C.

Tabla 22.

Promedios, desviación estándar y prueba de Tukey ($\leq 0,05\%$) de la viabilidad de dos temperaturas de almacenamiento de polen de tomate de árbol.

Temperatura (°C)	Media
4	9,61 ± 0.157 a
22	7,63 ± 0.157 b

Se concluye en términos generales que la temperatura para almacenamiento del polen influye en la viabilidad. De acuerdo a esto se establece que la mejor temperatura para almacenar polen es la temperatura de 4 °C con un porcentaje de viabilidad de 9,61%, esto concuerda con la sección anterior sobre el porcentaje de germinación del polen, donde la temperatura óptima de almacenamiento fue de 4 °C, y corrobora los resultados obtenidos por Gonzales et al., 2002.

El porcentaje de viabilidad se evaluó en seis periodos de tiempo de almacenamiento, acorde a la tabla 23, se puede ver que el almacenamiento del polen influye en el porcentaje de viabilidad.

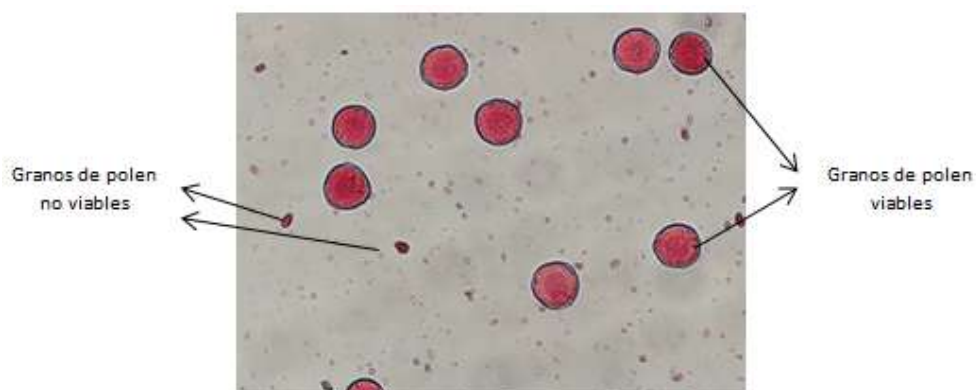
El porcentaje de viabilidad evaluado en seis periodos de almacenaje genero cinco rangos de significancia, donde el mayor porcentaje corresponde a los cero y cinco días de almacenamiento con 18,06% y 17,34% respectivamente y situándose en el quinto rango de significancia cuando se almaceno 45 días con 0,28% de viabilidad de los granos de polen.

Tabla 23.

Promedios, desviación estándar y prueba de Tukey ($\leq 0,05\%$) de la germinación de tomate de árbol en seis periodos de almacenamiento.

Almacenaje (días)	Germinación polen (%)
0 (8 horas)	18,06 \pm 0,213 a
5	17,34 \pm 0,219 a
10	8,99 \pm 0,140 b
20	4,79 \pm 0,083 c
30	2,24 \pm 0,038 d
45	0,28 \pm 0,005 e

De acuerdo a esto se establece que el utilizar el polen a las 8 horas pasadas a su colecta en la flor, es el que presenta mayor porcentaje de viabilidad, esto lo expone Gonzales (2002) quien detalla en su trabajo que el polen conservado va perdiendo gradualmente su hidratación y su viabilidad.



*Figura 13.*Granos de polen viables del día 0 de almacenamiento.

Finalmente, la tabla 24 se presentan los porcentajes de viabilidad de los materiales de tomate relacionados con la temperatura de almacenamiento, de lo cual se pudo determinar que de los cinco segregantes el material GT33P2 tiene la mayor viabilidad con 30,23% y 28.63 %, para porcentaje de viabilidad a 4° C y 22°C respectivamente.

Tabla 24.

Promedios, desviación estándar y prueba de Tukey ($\leq 0,05\%$) de la viabilidad de tomate de árbol en dos temperaturas de almacenamiento.

Material	Viabilidad (%)	Viabilidad (%)
	a 4°C	a 22°C
GT33P2	30,23 \pm 0,222 a	28,63 \pm 0,220 b
GT20P7	11,33 \pm 0,085 c	8,56 \pm 0,122 d
GT33P5	5,73 \pm 0,084 e	0,00 \pm 0,000 f
GT9P18	0,43 \pm 0,007 f	0,55 \pm 0,012 f
GT20P2	0,31 \pm 0,005 f	0,40 \pm 0,007 f

Así, nuevamente se obtiene un porcentaje de viabilidad similar al porcentaje de germinación en todos los materiales según cada temperatura, corroborando lo expuesto por Gonzales (2002), quien estima el uso de esta prueba por cuantificar con veracidad la fertilidad del polen.

4.4 Comparación entre las variables de porcentaje de germinación y porcentaje de viabilidad de polen

La figura 14 presenta la comparación entre las dos variables consideradas en este trabajo el porcentaje de germinación y el porcentaje de viabilidad del polen.

De forma general, ambos métodos permiten establecer que el mejor material, obteniendo que el material con mayor porcentaje de viabilidad y germinación de granos de polen es el segregante GT33P2 y el material con menor porcentaje de viabilidad y germinación de granos de polen es el segregante GT20P2.

De esta manera se ratifica que existe una relación directa entre la viabilidad y la germinación de polen.

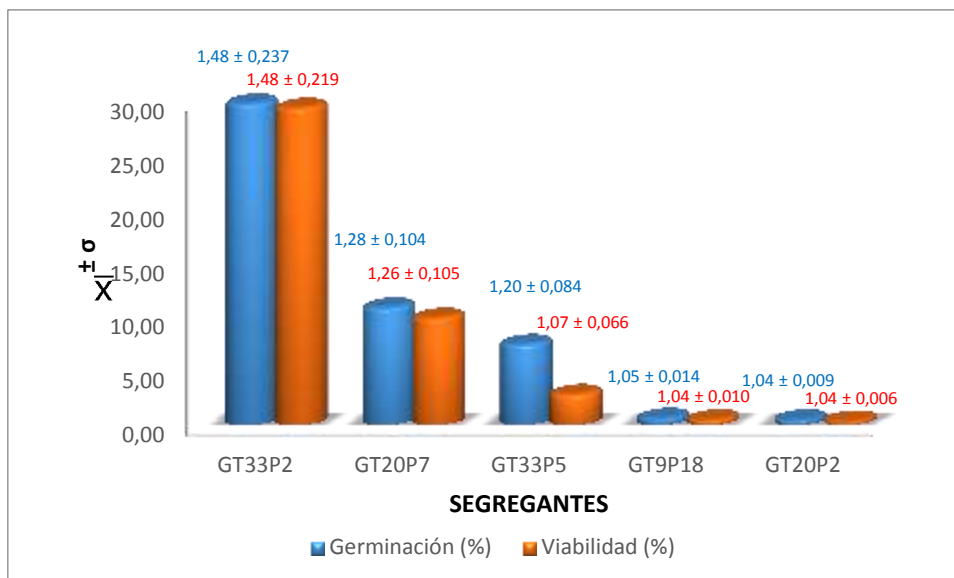


Figura 14. Comparación de promedios, desviación estándar y prueba de Tukey ($\leq 0,05\%$) de la germinación y viabilidad de cinco segregantes de tomate de árbol.

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

Acorde a la evaluación de la germinación y viabilidad de los granos de polen se establece como el mejor material aGT33P2, el cual pertenece al material comercial amarillo puntón.

Los resultados obtenidos del porcentaje de germinación y viabilidad de los granos de polen referente a la temperatura de almacenamiento, indican que la mejor temperatura para almacenar los granos de polen es a 4 °C.

Respecto al período de almacenamiento se determinó que los mayores porcentajes de germinación y viabilidad de los granos de polen se tiene a las 8 horas de haber realizado la colecta de polen en la flor.

El método que muestra mayor confiabilidad para determinar la funcionalidad del polen es la germinación *in vitro*.

5.2 Recomendaciones

Para efectuar programas de mejora con polinización manual, se recomienda previamente realizar el estudio de la funcionalidad del polen.

Se recomienda considerar la información generada en el presente estudio para realizar programas de fitomejoramiento.

REFERENCIAS

- Acosta, P. (2011). Caracterización morfológica y molecular de tomate de árbol, *Solanum betaceum* Cav. (Solanaceae). Universidad Politécnica de Madrid. Madrid, España. Recuperado el 2 de Mayo de 2017 de <http://www.redalyc.org/pdf/621/62119933011.pdf>.
- Albornoz, M. y Morales, R. (1989). Normas para el Cultivo de Tomate de Árbol en el Ecuador. Universidad Central del Ecuador. Escuela de Ingeniería Agronómica. Quito, Ecuador. Recuperado el 15 de Diciembre de 2016 de <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/4794/1/T-UCE-0004-26.pdf>.
- Anthurinfo, (2016). La importancia de la humedad en el crecimiento de las plantas. Anthura B.V. Países Bajos. Recuperado el 4 de Abril de 2017 de https://www.anthura.nl/wp-content/uploads/2016/05/Anthurinfo_2e_editie_ES.pdf
- Araméndiz, H., Cardona Ayala, C. y Torres, E. (2012). Germinación del Polen de Berenjena (*Solanum melongena* L.) en Condiciones in vitro. Revista Facultad Nacional de Agronomía. Recuperado el 3 de Enero del 2017 de <http://revistas.unal.edu.co/index.php/refame/article/view/36510/46733>.
- Astornatura, (2004). Temario de biología. Plantas vasculares. Recuperado el 8 de Noviembre de 2016 de <https://www.astornatura.com/Consultas/buscar.php?palabra=tomate>
- Bohs, L. y Nelson, A. (1999). *Solanum Maternum* (Solanaceae). A new Bolivian Relative of the Tree Tomato. Recuperado el 9 de Julio de 2016 de <https://utah.pure.elsevier.com/en/publications/solanum-maternum-solanaceae-a-new-bolivian-relative-of-the-tree-t>.

- Boyes, S. and Strubi, P. (1997). Organic acid and sugar composition of three New Zealand grown tamarillo varieties (*Solanum betaceum* (Cav.)) New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science. Vol. 25. Recuperado el 9 de Noviembre de 2016 de <http://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/01140671.1997.9513990>
- Cabral, E.; Casco, L.; Ayala, N.; Gonazles, C. (2010). Core Eudicotiledóneas, Diversidad Vegetal, Asterídeas - Euasterídeas I: Solanales: *Solanaceae*. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura (UNNE). Recuperado el 20 de Agosto de 2016 de <http://exa.unne.edu.ar/carreras/docs/7-%20Core%20Eudicotiledoneas.pdf>
- Calvo, I. (2009). Cultivo de Tomate de Árbol. Manejo Integrado de Cultivos/ frutales de altura. San José, Costa Rica. Recuperado el 17 de Mayo de 2017 de <http://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/pdf/inocuidad/guia-tomate-arbol-min.pdf>
- Centro de Información e Inteligencia Comercial CICO, (2009). Evaluación comercial de tomate de árbol en cuanto a exportaciones anuales. Recuperado el 17 de Diciembre de 2016 de <http://www.pucesi.edu.ec/pdf/cabuya.pdf>
- CIP – Centro Internacional De La Papa. (2000). *Molecular Biology Laboratory Protocols: Plant Genotyping*. Tercera edición, Lima, Perú. Recuperado el 22 de Agosto del 2016 de <https://cipotato.org/es/potato/>
- Cronquist, G. (2002). Introducción a la botánica programada.. Compañía editorial Continental, México. 2da. Edición. Recuperado el 7 de Octubre de 2016 de http://www.academia.edu/203218/Manual_de_Introducci%C3%B3n_a_la_Bot%C3%A1nica_2o_edici%C3%B3n

- Estrada, C., (2014). Fenología del Cultivo de Tomate de Árbol. Ecuador. Recuperado el 8 de Marzo de 2017 de <http://crisestrada.blogspot.com/2014/08/fenologia-del-cultivo-de-tomate-de-arbol.html>.
- Fisiología vegetal, (2010). Formación del saco embrionario. Recuperado el 6 de Junio de 2017 de <http://biologia-fisiovegetal.blogspot.com/2010/10/>
- Galletta, G. (1983). *Pollen and seed management. Methods in fruits breeding*. West LaFayette: Purdue University. Press. Recuperado el 5 de Enero del 2017 <https://link.springer.com/article/10.1007/s00122-004-1687-8>
- Gisberth, C., Picó, B. (2014). Determinación de la viabilidad de polen y semillas. ETSIAMN-Universidad Politécnica de Valencia. Departamento de Biotecnología. Valencia, España. Recuperado el 22 de Diciembre de 2016 de <https://riunet.upv.es/handle/10251/38344>
- González, M., A. Estévez, J. Castillo, J. Salomón, O. Moré y M. Hernández. (2002). La Calidad del polen: requisito indispensable del mejoramiento tradicional de la papa en Cuba. Revista Latinoamericana de la Papa. Recuperado el 20 de Agosto de 2016 de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0304-28472012000200008
- Heiser, CB. y Anderson, G. (1999). *Perspectives on New Crops and New Uses*. ASHS Press, Alexandria V. Recuperado el 7 de Abril de 2017 de <https://hort.purdue.edu/newcrop/proceedings1999/>
- Hernández, J. and León, J. (1994). *Neglected crops: 1942 from different perspective*. Food and Agriculture Organization of The United Nations. Rome. Recuperado el 5 de Mayo de 2017 de <http://www.fao.org/docrep/t0646e/T0646E00.htm>.

Instituto Nacional de Estadística y Censos INEC – ESPAC, 2013. Recuperado el 19 de Junio de 2017 de <http://www.ecuadorencifras.gob.ec/estadisticas-agropecuarias-2/>

Jiménez, K. y Cruz, F. (2011). Incompatibilidad sexual, un mecanismo genético que evita la autofecundación y contribuye a la diversidad vegetal. Departamento de Bioquímica, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México. Vol. 34. Recuperado el 12 de Octubre de 2016 de <https://www.revistafitotecniamexicana.org/documentos/34-1/1a.pdf>

Kearns, C. and Inouye, D. (1993). *Techniques for pollination biologists*. University Press of Colorado. Recuperado el 5 de Febrero de 2017 de <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19940200882>

León, J. (2002). Estudio pomológico de cinco cultivares de tomate de árbol (*Solanum betaceum* CAV.) en dos estados de cosecha y tres periodos de almacenamiento. Tesis Ing. Agr. Quito: Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Agrícolas. Recuperado el 7 de Enero de 2017 de <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/17205/1/D-90876.pdf>

León, J., Viteri, P. y Cevallos, G. (2004). Manual del Cultivo de Tomate de Árbol. Programa de Fruticultura. Granja Experimental Tumbaco INIAP. Quito Ecuador. Recuperado el 17 de Junio de 2017 de https://www.researchgate.net/publication/312938646_DESCRIPCION_AGRONOMICA_DEL_CULTIVO_DE_TOMATE_DE_ARBOL_Solanum_betaceum_Cav

Lewis, D. y Considine, J. (1999). *Pollination and fruit set in the tamarillo* *Cyphomandra betacea* Cav. *Floral biology*. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*. Vol. 27. México. Recuperado el 15 de Mayo de 2017 de <http://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/01140671.1999.9514086>

Ministerio de Agricultura y Ganadería MAG,(2016). Cultivo de tomate de árbol en el Ecuador. Recuperado el 5 de Abril de 2016 de <http://www.agricultura.gob.ec/uso-de-bioles-organicos-aumenta-produccion-de-tomate-de-arbol/>.

Morales, J. (2001). “Diagnóstico agro-socio-económico del cultivo de tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* Sendt.) en cuatro provincias de la sierra ecuatoriana (Imbabura, Pichincha, Tungurahua y Azuay)”. Tesis de grado previa a la obtención de título de Ingeniero Agrónomo de la Universidad Central del Ecuador, Quito. Recuperado el 7 de Enero del 2017 de <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/2063/1/T-UCE-0004-47.pdf>

Morton, J. (1987). Frutas de climas cálidos. Tomate de Árbol. Miami. Recuperado el 10 de Enero de 2017 de <http://www.soccolhort.com/revista/pdf/magazin/Vol1/vol.1no.2/Vol.1.No.2.Art.3.pdf>

Otycar, Abastecedora OTYCAR. Recuperado el 2 de Mayo de 2017 de <http://www.abastecedoraotycar.com/index.php/component/content/article/9-uncategorised/73-mapa>

Pack, J. (2007). *Pollen Morphology of Family Solanaceae from Pakistan*. Department of Botany, University of Karachi, Karachi, Pakistan. Recuperado el 25 de Noviembre de 2016 de [http://www.pakbs.org/pjbot/abstracts/39\(7\)/01.html](http://www.pakbs.org/pjbot/abstracts/39(7)/01.html)

Prohens, A., Rodríguez, A. y Nuez, F. (2004). *Breeding Andean solanaceae fruit crops for adaptation to subtropical climates*. ActaHort N° 662. Recuperado el 15 de Juio de 2017 de [http://www.pakbs.org/pjbot/abstracts/39\(7\)/01.html](http://www.pakbs.org/pjbot/abstracts/39(7)/01.html)

Punt, W., Hoen, P., Blackmore, S., Nilsson, S., y Le Thomas, A. (2007). *Glossary of pollen and spore terminology*. Review of Palaeobotany and Palynology.

Recuperado el 13 de Diciembre de 2016 de <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0034666706001291>

Ramirez, N., & Berry, P. (1995). Producción y Costo de Frutos y Semillas Relacionados a las Características de las Inflorescencias. *Biotropica*. pp.190-205. Recuperado el 9 de Marzo de 2017 de <https://experts.umich.edu/en/publications/production-and-cost-of-fruits-and-seeds-in-relation-to-infloresce>

Revelo, J., Pérez, E. y Maila, M. (2003). El cultivo de tomate de árbol. Quito, Ecuador: Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias INIAP. Recuperado el 21 de Mayo de 2017 de http://www.iniap.gob.ec/nsite/images/documentos/Cultivo%20tomate_ecologico.pdf

Salisbury, F. (2001). Fisiología vegetal. Grupo Editorial Iberoamérica México. Recuperado el 8 de Abril de 2017 de <https://mx.casadellibro.com/libro-fisiologia-vegetal/9789706250247/528350>

Shivanna, K., Linskens H. y Cresti, M. (1991). *Pollen viability and pollen vigor. Theoretical and Applied Genetics* N°81. Recuperado el 6 de Marzo de 2017 de <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00226109>

Soria, N. (2009). Tecnología del cultivo de tomate de árbol. Recuperado el 9 de mayo del 2015 de <http://tomatederbolproyecto.blogspot.com/>. Recuperado el 19 de Enero de 2017 de <http://tomatederbolproyecto.blogspot.com/>

Soria, N; Padilla, F; Larrea, G. (2009). Guía para el cultivo del tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.). Píllaro, EC, Convenio ESPE-Municipio de Píllaro. Recuperado el 20 de Diciembre de 2016 de http://www.usfq.edu.ec/publicaciones/avances/archivo_de_contenidos/Documents/volumen_1/Avances_2009_vol1_75-78.pdf

Tapia, C.; Zambrano, E.; Morillo, E. (2006). "Tomate de árbol (*CyphomandrabetaceaSendt.*), frutal promisorio para la diversificación del agro andino." Informe de Proyecto ejecutado por INIAP/DENAREF. Recuperado el 1 de Junio de 2017 de http://www.iniap.gob.ec/nsite/images/stories/descargas/informe_pas_rgf_ecuador_final_.pdf

ANEXOS

GLOSARIO DE TÉRMINOS

Actinomorfa: flor con más de un plano de simetría, o sea, con simetría radiada.

Antesis: apertura de la flor para la polinización.

Carpelo: cada una de las hojas modificadas y fértiles, que forman el gineceo.

Cigoto: célula resultante de la unión de las dos gámetas. Es la célula inicial del embrión en los embriófitos.

Colporado: se aplica al grano de polen provisto de aperturas compuestas de un coipo y una o más endo aperturas en forma de poro

DCA: diseño completamente al azar.

Dehiscente: que se abre espontáneamente a la madurez.

Emascular: extraer los estambres de la flor antes de que esta se abra.

Escorpioide: cima unípara donde las flores se ubican del mismo lado del eje que adopta una forma espiralada.

Exina: es la capa protectora externa en el grano de polen, generalmente rígido y ornamentado, que contiene esporopolenina que la torna bastante imputrecible y con poros, colpos, etc.

Incompatibilidad gametofítica: la incapacidad de gametos funcionales deefectuar la fertilización en combinaciones particulares entre genotipos.

Intina: envoltura interna, celulósica, de los granos de polen y las esporas.

Isopolar: se aplica al grano de polen o a la espora en cuyas caras polar y proximal no hay diferencias.

Lanceolado/a: órgano laminar con contorno en forma de punta de lanza, angostamente elíptico con los extremos agudos. Puede ser estrechamente o anchamente lanceolado o linear-lanceolado.

Microespora: espora producida por meiosis en un microsporangio, producirá un gametofito masculino.

Micrópilo: abertura que dejan los tegumentos del óvulo en su extremo.

Microsporocito: célula que sufre meiosis para producir cuatro microsporas.

Pedicelo: eje que sostiene cada una de las flores de una inflorescencia. En las gramíneas el eje que soporta la espiguilla

Pedúnculo: eje que sostiene una flor solitaria o una inflorescencia.

Perenne: planta u órgano que vive más de dos años; se opone a anual y bienal. Vegetal cuyo ciclo vegetativo se extiende más de dos años.

Persistente: órgano que se conserva en su sitio luego de maduro; no es caedizo.

Pubescente: órgano cubierto de pelos finos y suaves.

Raquis: eje del que nacen los folíolos de una hoja compuesta o las flores de una inflorescencia.'

Súpero: ovario que se ubica por encima de las piezas florales.

Tallo semileñosos: son aquellos de base leñosa y la parte superior herbácea es propia de los arbustos.

Tapetum: capa de células de la antera que rodean a las células madre de la microspora y, luego de la meiosis, a las microsporas y, más tarde, a los granos de polen.

Teca: cada una de las dos mitades de la antera con dos sacos polínicos.

