

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA

SEDE QUITO

CARRERA:

INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES

Trabajo de titulación previo a la obtención del título de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES

TEMA:

GERMINACIÓN DE *Solanum betaceum*: EVALUACIÓN *IN VITRO* Y *EX VITRO* DE FACTORES FÍSICOS Y QUÍMICOS

AUTOR:

DANIEL ARMANDO MOLINA MONTOYA

DIRECTORA:

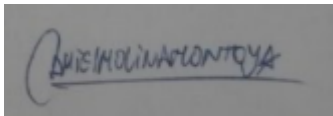
IVONNE DE LOS ANGELES VACA SUQUILLO

Quito, diciembre del 2020

CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR

Yo, Daniel Armado Molina Montoya, con documento de identificación N° 172126366-1, manifiesto mi voluntad y cedo a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy autor del trabajo de grado/titulación intitulado: “GERMINACIÓN DE *Solanum betaceum*: EVALUACIÓN *IN VITRO* Y *EX VITRO* DE FACTORES FÍSICOS Y QUÍMICOS”, mismo que ha sido desarrollado para optar por el título de: Ingeniero en Biotecnología de los Recursos Naturales, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En aplicación a lo determinado en la Ley de Propiedad Intelectual, en mi condición de autor me reservo los derechos morales de la obra antes citada. En concordancia, suscribo este documento en el momento que hago entrega del trabajo final en digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

A rectangular box containing a handwritten signature in blue ink. The signature appears to read 'DANIEL MOLINA MONTOYA'.

Nombre: Daniel Armado Molina Montoya

Cédula: 172126366-1

Fecha: diciembre de 2020

Declaratoria de coautoría de la docente tutora

Yo, declaro que bajo mi dirección y asesoría fue desarrollado el trabajo de titulación GERMINACIÓN DE *Solanum betaceum*: EVALUACIÓN *IN VITRO* Y *EX VITRO* DE FACTORES FÍSICOS Y QUÍMICOS realizado por Daniel Armando Molina Montoya, obteniendo un producto que cumple con todos los requisitos estipulados por la Universidad Politécnica Salesiana para ser considerados como trabajo final de titulación.

Quito, noviembre de 2020



Ivonne de los Ángeles Vaca Suquillo|

Cédula de identidad: 171472690-6

Dedicatoria

Este trabajo de investigación lo dedico a Silvia Montoya, mi abnegada madre, quien, con su incansable esfuerzo, me ha permitido continuar y culminar mi carrera universitaria, además, profundamente agradecido por toda la ayuda brindada hacia conmigo, por su lucha, su ahínco y su esfuerzo en el día a día.

Para mi amada abuelita Alicia Díaz, quien es mi segunda madre, que, con su ternura y amor, me ha cuidado, protegido, guiado y aconsejado; con sus enseñanzas y valores me ha forjado en el hombre que soy; a quien, le debo todo, agradezco a la vida por tenerte aún a mi lado mi viejita linda.

Y por supuesto, este logro me dedico a mi persona, pues me he esforzado mucho para alcanzarlo, siendo un escalón más de mis metas y objetivos en mi vida... después de arduas jornadas, ¡al fin podré decir... Я ИНЖЕНЕР!

Agradecimiento

A Luis Alberto Montoya y Ana Méndez, quienes supieron ser soporte y con su ayuda pude culminar mi anhelado proceso académico universitario.

A Luis Montoya y Doris Gordón, quienes han brindado una ayuda incondicional a mi familia.

A Cynthia Escobar, quien ha sido un apoyo fundamental y constante, gracias por tu paciencia y ayuda.

A MSc. Ivonne Vaca, quien confió en mí y me brindó la oportunidad de poder realizar este trabajo de investigación.

A mis primos, primas, amigos, tíos y tías... a todos ustedes. ¡Muchas gracias!

Contenido

Introducción.....	1
Capítulo I	2
1. Marco conceptual.....	2
1.1 Descripción general de <i>Solanum betaceum</i> L.....	2
1.2 Taxonomía.....	2
1.3 Descripción botánica	3
1.4 Genotipos de tomate de árbol en Ecuador	4
1.5 Ecofisiología.....	5
1.6 Propagación	6
1.6.1 Propagación convencional o <i>ex vitro</i>	6
1.6.2 Cultivo <i>in vitro</i>	7
1.6.2.1 Etapas del cultivo <i>in vitro</i>	8
1.6.2.2 Medios de cultivo	9
1.6.2.3 Macronutrientes y micronutrientes.....	10
1.6.2.4 Fuentes de carbono	10
1.6.2.5 Reguladores de crecimiento.....	10
1.6.2.6 Agentes gelificantes.....	11
1.6.2.7 pH del medio de cultivo.....	11
1.6.2.8 Carbón activado	12
1.7 Semillas y germinación del tomate de árbol.....	12
1.7.1 Factores que afectan la germinación.....	13
1.7.1.1 Viabilidad	13
1.7.1.2 Latencia	14

1.7.1.3	Dormancia	14
1.7.1.4	Factores ambientales.....	16
1.7.2	Tratamientos pregerminativos	17
1.7.2.1	Estratificación.....	17
1.7.2.2	Escarificación	18
1.7.2.2.1	Escarificación mecánica manual	18
1.7.2.2.2	Escarificación química-osmoacondicionamiento.....	18
1.7.2.2.3	Lixiviación	19
Capítulo II.....		20
2.	Metodología.....	20
2.1	Elección del explante y localización	20
2.2	Protocolo de desinfección.....	20
2.3	Pregerminación.....	21
2.3.1	Factores físicos de estudio	21
2.3.1.1	Tratamientos físicos evaluados <i>ex vitro</i>	22
2.3.1.1.1	Unidad experimental	23
2.3.1.1.2	Análisis estadístico.....	23
2.3.1.2	Tratamientos físicos evaluados <i>in vitro</i>	24
2.3.1.2.1	Unidad experimental	24
2.3.1.2.1	Análisis estadístico.....	24
2.3.2	Evaluación de factores químicos	25
2.3.2.1	Tratamientos químicos evaluados <i>ex vitro</i>	26
2.3.2.1.1	Unidad experimental	26
2.3.2.1.2	Análisis estadístico.....	27

2.3.2.2	Tratamientos químicos evaluados <i>in vitro</i>	27
2.3.2.2.1	Unidad experimental	28
2.3.2.2.2	Análisis estadístico.....	28
2.4	Descripción de variables.....	29
2.4.1	Germinación.....	29
2.4.2	Días a la germinación.....	29
2.4.3	Porcentaje de contaminación	29
2.4.4	Color de hojas	30
2.4.5	Longitud del tallo	30
2.4.6	Longitud de la raíz	30
2.4.7	Número de hojas	30
2.5	Siembra de las semillas.....	31
2.5.1	Siembra o cultivo <i>ex vitro</i>	31
2.5.2	Siembra o cultivo <i>in vitro</i>	31
Capítulo III	32
3.	Resultados y discusión.....	32
3.1	Tratamientos físicos <i>ex vitro</i>	32
3.1.1	Germinación.....	34
3.1.2	Días a la germinación.....	36
3.1.3	Color de hojas	37
3.1.4	Longitud del tallo	40
3.1.5	Longitud de raíz	41
3.1.6	Número de hojas	43
3.2	Tratamientos físicos <i>in vitro</i>	44

3.3	Tratamientos químicos <i>ex vitro</i>	45
3.3.1	Germinación.....	47
3.3.2	Días a la germinación.....	49
3.3.3	Color de hojas	49
3.3.4	Longitud del tallo	51
3.3.5	Longitud de raíz	52
3.3.6	Número de hojas	55
3.4	Tratamientos químicos <i>in vitro</i>	56
3.4.1	Germinación.....	58
3.4.2	Contaminación	59
3.4.3	Longitud del tallo	59
3.4.4	Longitud de raíz	59
3.4.5	Número de hojas	62
	Conclusiones	64
	Recomendaciones	65
	Bibliografía	Error! Bookmark not defined.
	Anexos	81

Índice de tablas

Tabla 1. Taxonomía del tomate de árbol.....	3
Tabla 2. Genotipos de tomate de árbol en Ecuador.....	5
Tabla 3. Tratamientos físicos para la germinación de <i>S. betaceum</i> , interacción de horas frío y escarificación manual.....	22
Tabla 4. Tratamientos químicos para la germinación de <i>S. betaceum</i> , interacción entre carbón activado y nitrato de potasio (KNO ₃).....	26
Tabla 5. Medianas para las variables germinación, días a la germinación y color de hojas; y, medias para las variables longitud del tallo, longitud de la raíz y número de hojas, para los tratamientos pregerminativos físicos evaluados <i>ex vitro</i>	33
Tabla 6. Medianas para las variables germinación, días a la germinación y color de hojas; y, medias para las variables longitud del tallo, longitud de la raíz y número de hojas, para los tratamientos pregerminativos químicos evaluados <i>ex vitro</i>	46
Tabla 7. Medianas para las variables germinación y contaminación; y, medias para las variables longitud del tallo, longitud de la raíz y número de hojas, para los tratamientos pregerminativos químicos evaluados <i>in vitro</i>	57

Índice de figuras

Figura 1. Estados de germinación de <i>Solanum betaceum</i>	13
Figura 2. Tratamientos físicos <i>ex vitro</i> con escarificación manual de <i>Solanum betaceum</i>	23
Figura 3. Tratamientos físicos evaluados <i>in vitro</i> con exposición a KNO ₃ de <i>Solanum betaceum</i>	25
Figura 4. Tratamientos químicos <i>ex vitro</i> con riego carbón activado en <i>Solanum betaceum</i>	27
Figura 5. Tratamiento químico evaluados <i>in vitro</i> con exposición a KNO ₃ y presencia de carbón activado en <i>Solanum betaceum</i>	29
Figura 6. Escala colorimétrica para hojas de <i>Solanum betaceum</i>	30
Figura 7. Medianas y medias para la variable germinación (%), para la técnica de escarificación (A), exposición a horas frío (B) y tratamientos (C).....	34
Figura 8. A) Medianas y medias para la variable días a la germinación, para tratamientos. B) Curva de germinación de plántulas germinadas por tratamiento.....	36
Figura 9. Medianas y medias para la variable color de hojas, para la técnica de escarificación (A), exposición a horas frío (B) y tratamientos (C).....	37
Figura 10. Color de hojas de <i>Solanum betaceum</i> en tratamientos físicos <i>ex vitro</i>	39
Figura 11. Medias para la variable longitud del tallo, para la técnica de escarificación (A), exposición a horas frío (B) y tratamientos (C).....	40
Figura 12. Medias para la variable longitud de raíz, para la técnica de escarificación (A), exposición a horas frío (B) y tratamientos (C).....	41

Figura 13. Medias para la variable número de hojas, para la técnica de escarificación (A), exposición a horas frío (B) y tratamientos (C).....	43
Figura 14. Medianas y medias para la variable germinación (%), con relación a la exposición a KNO ₃ a distintas horas (A) y tratamientos B).....	47
Figura 15. A) Medianas y medias para la variable días a la germinación, para exposición a KNO ₃ . B) Curva de plántulas germinadas por exposición a KNO ₃	49
Figura 16. Color de hojas de <i>Solanum betaceum</i> en tratamientos químicos <i>ex vitro</i>	51
Figura 17. Medias para la variable longitud de tallo, con relación a la exposición a KNO ₃ a distintas horas (A) y tratamientos (B).....	51
Figura 18. Medias para la variable longitud de raíz, con relación a la exposición a KNO ₃ a distintas horas (A) y tratamientos (B).....	53
Figura 19. Medias para la variable número de hojas, con relación a la exposición a KNO ₃ a distintas horas.....	55
Figura 20. Medianas y medias para la variable germinación, para el carbón activado.....	58
Figura 21. Medias para la variable longitud del tallo, para el carbón activado.....	59
Figura 22. Medias para la variable longitud de la raíz, para el carbón activado (A) y tratamientos (B).....	60
Figura 23. Medias para la variable número de hojas, para el carbón activado (A) y tratamientos (B).....	62
Figura 24. Siembras tratamientos químicos <i>in vitro</i> de <i>Solanum betaceum</i>	63

Índice de anexos

Anexo 1. Protocolo de desinfección de <i>Solanum betaceum</i>	81
Anexo 2. Proceso de escarificación manual a semillas de <i>Solanum betaceum</i>	82

Resumen

Solanum betaceum es una importante especie en la agricultura y economía de los productores nacionales e internacionales, el Ecuador registra una superficie comercial de 7600 ha; su principal forma de propagación es vía sexual, sin embargo, la producción de tomate de árbol se ve limitada porque sus semillas poseen bajo porcentaje de germinación, los cultivos presentan problemas fitosanitarios como la antracnosis y la virosis, y además se carece de un sistema de provisión de material vegetal de élite. El presente trabajo se desarrolla con el fin de evaluar tratamientos de pregerminación, conseguidos a través de la exposición de la semilla a procedimientos físicos y químicos, tales como la escarificación manual, estratificación en frío, carbón activado y nitrato de potasio (KNO_3), tanto en cultivo *ex vitro* (sustrato) como *in vitro* (medio de cultivo). En cuanto a los mejores tratamientos pregerminativos, para la evaluación de métodos físicos *ex vitro*, el procedimiento sin escarificación manual expuesto a 48 horas frío T3 (SEM48), presentó la mejor respuesta en germinación, con un promedio del 92 %; asimismo, el tratamiento químico *ex vitro*, basado en riego con una solución de carbón activado y 0 horas frío T5 (RCA0) arrojó el mejor resultado, con 88 % de germinación; y por su parte, para los tratamientos químicos *in vitro*, la presencia de carbón activado en el medio de cultivo registró el promedio más destacado de germinación de 60 %.

Palabras claves: estratificación, escarificación, latencia, carbón activado, KNO_3

Abstract

Solanum betaceum is a very important plant in the agriculture and economy of national and international producers, Ecuador has a commercial area of 7600 ha; its main form of spread is sexual, however, its production is limited because of very low percentage of germination, Crops present phytosanitary problems such as anthracnose and virus, also the lack of an elite plant material propagation system. Based on the problems mentioned above, this study proposed to evaluate the seed exposure on physical and chemical factors such as: manual scarification, stratification, charcoal activated and potassium nitrate (KNO_3), both *ex vitro* and *in vitro* seeding. In regard to the best pregerminative treatments, there is the procedure without manual scarification exposed to 48 cold hours T3 (SEM48), which presented the best response in germination, with an average of 92 %; in the same way, *ex vitro* chemical treatment based on a charcoal activated solution and no cold hours T5 (RCA0) shows the best result with 88 % germination; and finally, for *in vitro* chemical treatments, the presence of charcoal activated in the culture medium registered the most outstanding germination average of 60 %.

Keywords: stratification, scarification, latency, charcoal activated, KNO_3

Introducción

Solanum betaceum comúnmente conocido a nivel mundial como Tamarillo o Tomate de árbol, es un arbusto frutal que tuvo su origen en Sudamérica; sin embargo, en la actualidad los cultivos de este fruto se han expandido en diferentes países del mundo como Nueva Zelanda y Kenia. A nivel de Sudamérica, se destacan a Colombia y Ecuador como países productores del fruto, con calidad de exportación; no obstante, cabe mencionar que en Ecuador aún se necesitan mejoras en el proceso agrícola para llevar al tomate de árbol a un nivel más competitivo en el mercado internacional (Osorio, 2013).

En Ecuador, el tomate de árbol registra una superficie comercial de 7600 ha (Moreno, Molina, Ortiz, Peñafiel, & Moreno, 2020), y una producción de 20212 t (Viera, Brito, & Beatriz, 2019), por lo que es de alto interés en la economía de los productores. Sin embargo, su producción presenta limitantes para la expansión del cultivo y la exportación de la fruta, como el bajo porcentaje de germinación de la semilla, la falta de tecnología y susceptibilidad a plagas (Estévez, 2019). A raíz de las limitantes señaladas, se evidencia la carencia de un sistema de propagación de material vegetal lo que provoca déficit de crecimiento del cultivo; se hace necesaria la evaluación de protocolos pregerminativos para favorecer la producción de plantas y para la renovación en campo.

Con la finalidad de favorecer la germinación de *Solanum betaceum* se propone la implementación de tratamientos pregerminativos; mediante la evaluación de factores físicos y químicos, como la escarificación manual, estratificación en frío, uso de carbón activado y nitrato de potasio, evaluados tanto en cultivo *in vitro* como *ex vitro*.

Capítulo I

1. Marco conceptual

1.1 Descripción general de *Solanum betaceum* L.

Solanum betaceum L. conocido comúnmente como tomate de árbol, es una planta nativa del continente sudamericano. Se presume que la domesticación del fruto se presentó en la parte andina del norte de Perú y sur del Ecuador (Revelo, Pérez, & Maila, 2004); pero sus cultivos comerciales se han expandido por distintos países, como por ejemplo Nueva Zelanda, que se ha convertido en el principal país productor y exportador en el mundo (Arahana, Cabrera, & Torres, 2010).

La producción de tomate de árbol en Ecuador ha tenido un destacable incremento en los últimos años, en 2015 registró una superficie productiva de 2472 ha, con una producción de 19183 t (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca, 2015); mientras que, del 2015 al 2017 se presentó un aumento del 70 % en la sierra ecuatoriana alcanzando las 7600 ha (Moreno, Molina, Ortiz, Peñafiel, & Moreno, 2020), una producción de 20212 t y un rendimiento de 10,25 t/ha (Viera, Brito, & Beatriz, 2019); además, ocupa el décimo puesto de los cultivos frutícolas interandinos en términos de rendimiento, siendo *S. betaceum* un cultivo de gran importancia para el sector agrícola rural de la región sierra (Moreno et al., 2020).

1.2 Taxonomía

A continuación, en la Tabla 1 se detalla la taxonomía de *Solanum betaceum*:

Tabla 1.

Taxonomía del tomate de árbol.

Clase	Equisetopsida C. Agardh
Subclase	Magnoliidae Novák ex Takht.
Super orden	Asteranae Takht.
Orden	Solanales Juss. Ex Bercht. & J. Presl
Familia	Solanaceae Juss.
Género	<i>Solanum</i> L.
Especie	<i>Solanum betaceum</i> Cav.

Fuente: Tropicos.org (2020).

1.3 Descripción botánica

En cuanto a la descripción botánica de *Solanum betaceum*, Castro (2014), menciona que es un arbusto caracterizado por ser semileñoso, con una altura promedio de 2 a 3 m, el cual presenta un tronco principal que se ramifica a una altura de 1,5 m; la raíz principal de tipo pivotante se acompaña de raíces secundarias conforme al desarrollo fisiológico y estas a su vez, generan más ramificaciones; el tallo es suculento en su etapa inicial y debido a su desarrollo fisiológico se torna leñoso; las hojas son perennes simples y de tipo aovada o cordadas, y pubescentes en el envés.

La flor se caracteriza por su forma pentámera con simetría multilateral, con un color entre blanco y rosado, cuyos pétalos se afilan hacia su extremo y se unen entre sí por la base. En cuanto a las partes de la flor se destaca el cáliz y corola hipógina, con tonalidades que van desde el blanco a verde con una conformación estrellada, cuenta con estambres filamentosos iguales; y cabe mencionar que el ovario superior y su estilo están incrustados a su base (Cronquist, 1986,

como se citó en Castro, 2014). Adicional, muestra una inflorescencia en forma de cima escorpioide terminal de apariencia axilar, es decir, que la rama continúa creciendo una vez que la flor nace; y se agrupa en racimos terminales cuyo crecimiento es en forma escalonada (Bohs, 1994).

Acerca del fruto, se puede definir su forma como ovoidal redondeada, su pericarpio tiene tonalidades que van desde el amarillo hasta el rojo oscuro y, posee una pulpa jugosa con un sabor ligeramente ácido (Tello, 2016). Así también Meza & Manzano (2009), describen que el fruto puede presentar distintas siluetas (ovalada, apiculada, esférica, piriforme y elipsoide), con dimensiones desde pequeña, mediana a grande; además, mencionan que su mesocarpio y endocarpio no necesariamente debe ser del mismo color del pericarpio.

Dependiendo del grado de madurez, las semillas pueden variar en número en cada fruta, Castro (2014), menciona que el fruto tiene “entre 300 hasta 500 semillas pequeñas, circulares y planas, localizadas en dos lóculos formados por tejido mucilaginoso de color púrpura a rojo”. Las semillas de *S. betaceum* presentan otras características representativas como: tonalidad amarillenta, pubescencia, peso promedio (placenta-semilla) entre 33,98 y 43,30 g, y un número de semillas/fruto que varía entre 224,80 y 283,76; para tomates que presentan arilos de color amarillo y rojo (Meza & Manzano, 2009).

1.4 Genotipos de tomate de árbol en Ecuador

Los investigadores Revelo, Pérez & Maila (2004), señalan que:

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 Zelanda, obtenido del cruzamiento entre los tomates “Rojo Puntón” y el “Negro Silvestre Lojano”, nativos de Ecuador (pag. 22).

En la Tabla 2 se puede observar los genotipos de tomate de árbol más característicos en el país.

Tabla 2.

Genotipos de tomate de árbol en Ecuador.

Nombre	Forma	Color cáscara	Color pulpa
Amarillo	Ovoide	Amarillo	Anaranjado claro
Negro	Ovoide	Púrpura	Anaranjado-púrpura
Redondo	Elíptico	Anaranjado claro	Anaranjado claro
Puntón (común)	Ovoide	Anaranjado oscuro	Anaranjado claro
Rojo	Ovoide	Rojo oscuro	Anaranjado medio
Amarillo Gigante	Ovoide	Anaranjado claro	Anaranjado claro
Mora (Neozelandés)	Ovoide	Morado	Anaranjado-púrpura
Mora (Ecuatoriano)	Ovoide	Morado	Anaranjado-púrpura

Fuente: Revelo, Pérez, & Maila (2004).

1.5 Ecofisiología

Solanum betaceum crece de manera silvestre entre los 1200 y 3000 msnm, muestra una mayor eficiencia en clima moderadamente frío, con una temperatura entre 13 °C a 20 °C, con una precipitación anual de 1500 a 2000 mm y una humedad relativa del 80 %, el déficit de lluvia reduce los rendimientos y la calidad de la fruta. En cuanto al suelo, se conoce que el tomate de árbol necesita suelos con alto contenido de oxígeno, fértiles, sueltos y con buen drenaje, pues el empozamiento de agua puede producir muerte y pudrición en el tejido del árbol (Bonnet & Cárdenas, 2012, págs. 827-828).

1.6 Propagación

Solanum betaceum se puede propagar sexual y asexualmente, la reproducción por semillas es la más común y requiere de características idóneas de la planta madre y del fruto, estas son: vigorosidad, color uniforme, libre de plagas y enfermedades, tamaño adecuado, entre otros (Alvarado, 1994, págs. 8-9).

La propagación a través de semillas es fácil y rápida, lo cual representa una significativa ventaja en su reproducción, esto se ve favorecido por la cantidad de semillas, mismas que dependen de la variedad del fruto; por ejemplo, el tomate común presenta entre 150 a 180 semillas mientras que el tomate amarillo de 50 a 60 semillas. Para la obtención de semillas a partir de frutos maduros, se procede a la separación de la pulpa, se colocan en un contenedor con una pequeña cantidad de agua durante 2 días, con el objetivo de lograr la fermentación y de esta manera mejorar el proceso de germinación. Posteriormente, es importante realizar un adecuado lavado con abundante agua en un cedazo y dejar secar en sombra sobre papel absorbente; se recomienda utilizar dichas semillas en los primeros 15 días para obtener mejores resultados en la germinación (Bonnet & Cárdenas, 2012, pág. 828), tanto en cultivo convencional como *in vitro*.

1.6.1 Propagación convencional o *ex vitro*

En cuanto a la propagación asexual convencional o *ex vitro*, el tomate de árbol se puede reproducir mediante estacas, acodos aéreos o terrestres, injertos, o yemas (Alvarado, 1994; Bonnet & Cárdenas, 2012). El acodo aéreo utiliza ramas con brotes en buen estado, se debe cubrir un nudo para retener la humedad, evitar la desecación y generar calor; en cambio, en el acodo terrestre se debe enterrar nudos de ramas de tomate de árbol y la parte terminal fuera del suelo con el fin de generar raíces. Cuando las plantas se encuentren listas se deben llevar al campo (Bonnet & Cárdenas, 2012).

La reproducción por estacas genera enraizamiento, pues el corte en el material vegetal estimula la división celular conllevando a la generación de primordios radicales; el material vegetal a implementar debe ser de carácter semileñoso, de 1 a 2 años de edad, que contenga al menos 4 yemas con medidas entre 1,5-3 cm de diámetro y 45 cm de longitud, la estaca se siembra directamente en la tierra levemente inclinada, con una separación de 20 a 30 cm y con humedad permanente, se usan tanto brotes basales y brotes aéreos terminales, así como estacas axilares y terminales (Alvarado, 1994).

De igual manera, los injertos de tomate de árbol se entierran en el suelo, eliminando previamente todas sus hojas, dejando únicamente el brote terminal utilizando púas terminales que se trasplantan a los 60 días; los portainjertos más utilizados para *Solanum betaceum* son *Nicotina glauca* y *Solanum hispidum*, por su resistencia a nemátodos y a la pudrición radicular (Feicán, 2016).

1.6.2 Cultivo *in vitro*

La tecnología del cultivo *in vitro* constituye una herramienta biotecnológica que permite la obtención de material vegetal a partir de plantas o tejidos vegetales en condiciones de total asepsia, utilizando medios de cultivos idóneos que contienen agar nutritivo con azúcares y minerales necesarios, así como reguladores de crecimiento para el desarrollo, masificación y obtención de material vegetal; de esta manera, la micropropagación es la técnica que más se ha estudiado para la propagación de cultivos, empleando explantes de una planta madre para obtener plantas con la misma carga genética, lo que permite trabajar en un sinnúmero de opciones tales como, protoplastos, células, tejidos, órganos, semillas, embriones conocidos como explantes, colocados en ambientes artificiales que ha permitido un acercamiento y un estudio más detallado de las estructuras celulares y moleculares de plantas (Castillo, 2004;

Orquera, 2013). De igual manera se trabaja con semillas, gametos, entre otros explantes; para la propagación de plantas.

El éxito del cultivo *in vitro* radica en la capacidad que poseen las células del explante para su desdiferenciación, multiplicación y diferenciación a cualquier tipo de tejido, mediante las características de totipotencialidad y plasticidad de las células vegetales (Sharry, Adema, & Abedeni, 2015). Por su parte Ferl & Paul (2000), como se citó en Calva y Pérez (2005, pág. 3), mencionan sobre la totipotencia que “cualquier célula vegetal contiene una copia íntegra del material genético de la planta a la que pertenece sin importar su función o posición en ella, y por lo tanto tiene el potencial para regenerar una nueva planta completa”. En cuanto a la plasticidad, Hernández (2006), consolida que es la capacidad de regeneración biológica a partir de tejidos.

1.6.2.1 Etapas del cultivo *in vitro*

Orquera (2013), distingue 5 etapas en el cultivo *in vitro*:

- Fase 0: fase en la cual se selecciona el material vegetal a utilizar.
- Fase 1: llamada fase de introducción al medio de cultivo, donde el material vegetal o explante que se encuentra debidamente esterilizado, ingresa a un medio primario de cultivo.
- Fase 2: se denomina fase de multiplicación, en la cual a través de subcultivos se propone incrementar el material vegetal hasta tener una cantidad considerable de vitroplantas.
- Fase 3: etapa de enraizamiento que busca desarrollar las raíces y generar la capacidad de función autótrofa de la vitroplántula para que pueda asimilar las condiciones de campo.
- Fase 4: última etapa del cultivo *in vitro* conocida como fase de aclimatación, donde el acondicionamiento de las vitroplantas se centra en la humedad e intensidad lumínica y se realiza progresivamente, retirando la plántula del medio de cultivo y llevándola a un

recipiente o maceta para su adaptación en un cuarto de crecimiento y su posterior traslado al invernadero.

Es importante recalcar que existe un procedimiento subsecuente de la fase 0 que se denomina “protocolo de desinfección”. Su importancia radica en que el material vegetal a utilizar en el cultivo *in vitro* puede contener elementos contaminantes que afecten el desarrollo del explante y de la futura vitropianta. Por lo regular, en el protocolo de desinfección se puede emplear agua estéril, etanol, productos a base de cloro como hipoclorito de sodio, entre otros, usados en concentraciones y tiempos específicos para cada especie, con la finalidad de evitar contaminación (Meneses & Masache, 2018).

1.6.2.2 Medios de cultivo

Los medios de cultivos son artificiales y de variada composición, dependiendo de la necesidad de la especie vegetal y de la orientación de la investigación. Los elementos más comunes de un medio de cultivo son: sales minerales (macronutrientes y micronutrientes), vitaminas, reguladores de crecimiento, fuentes de carbono, gelificante (opcional), agua, entre otros. Así, su función principal es nutrir a los explantes para su desarrollo vegetal, recordando que las plantas en cultivo *in vitro* presentan características heterótrofas, por lo cual necesitan de fuentes de carbono y componentes minerales; además, estos últimos elementos son fundamentales en el proceso de absorción de nutrientes y salinidad del medio (Pelacho, Martín-Closas, & Safeliu, 2006).

Los medios de cultivo más utilizados y conocidos para el cultivo *in vitro* son: Knudson (1946), M&S (Murashige y Skoog, 1962), White (1963), WPM (Lloyd y McCown 1980) y KM8p (Kao y Michayluk 1982) (Pelacho, Martín-Closas, & Safeliu, 2006).

El medio Murashige y Skoog (M&S), es un medio ampliamente utilizado y evaluado en diferentes especies, desde que fue inventado por los científicos Toshio Murashige y Folke

Skoog en 1962, durante sus investigaciones de nuevos reguladores del desarrollo vegetal, se determinó que el nitrógeno promovía el crecimiento del tejido de tabaco (*Nicotiana tabacum*), de esta manera se ha convertido en el medio más comúnmente usado en el cultivo *in vitro*, empleando como concentración idónea 4,46 g/L (Roca & Mogrinski, 1993).

1.6.2.3 Macronutrientes y micronutrientes

Los macronutrientes son: nitrógeno (N), potasio (K), calcio (Ca), fósforo (P), magnesio (Mg) y azufre (S); mientras que, entre los micronutrientes están: hierro (Fe), níquel (Ni), cloro (Cl), manganeso (Mn), zinc (Zn), boro (B), cobre (Cu) y molibdeno (Mo). En el medio M&S, los macronutrientes y micronutrientes se caracterizan por permitir el crecimiento y diferenciación de células o tejidos, de tal forma que brindan los requerimientos necesarios a las especies vegetales (George & Hall, 2007).

1.6.2.4 Fuentes de carbono

Un elemento muy común en los medios de cultivo es la sacarosa, se recomienda adicionar en un rango óptimo del 2 al 5 %. Como otras fuentes de carbono se tiene: almidón, galactosa, maltosa, lactosa, y glucosa. El desdoblamiento del carbono induce al crecimiento de plantas, activa el proceso de morfogénesis, formación de raíces adventicias y yemas axilares (Abobkar and Ahmed, 2012, pág. 30).

1.6.2.5 Reguladores de crecimiento

Los reguladores de crecimiento son de origen sintético o procesado a partir de otros organismos, se usan a dosis únicas o combinadas; estos regulan diferentes procesos bioquímicos a nivel celular que promueven o inhiben el crecimiento vegetal, participan en distintos procesos como la fotosíntesis, maduración de frutos, germinación, entre otros. Su papel es importante para potencializar el desarrollo vegetal en un cultivo *in vitro* y ha servido como fuente de

investigación y análisis de la fisiología vegetal, con el fin de controlar sus procesos de desarrollo en función del interés del investigador; se clasifican en diez tipos de acuerdo con su funcionalidad en el tejido vegetal (Alcantara, Acro, Alcántara, & Sánchez, 2019). La combinación de los reguladores junto con las condiciones ambientales, garantizan el estímulo de la morfogénesis de las células vegetales con el propósito de regenerar vitroplantas (Diro, van Staden, & Bornman, 2004).

1.6.2.6 Agentes gelificantes

Es un elemento que permite que el medio de cultivo presente una característica semisólida o sólida, y sirve como sostén para el explante. El agar por sus propiedades fisicoquímicas se ha convertido en el elemento más utilizado en el cultivo de microorganismos y plantas, su conformación química viene de una mezcla de polisacáridos, extraídos de las paredes de algas rojas (López-Escamilla, López-Herrera, & Loaiza, 2016). El agar se solidifica a 45 °C, contiene elementos como el Magnesio y Calcio, la gelificación del agar puede influir en el crecimiento del explante (Abobkar & Ahmed, 2012), por eso el tipo de agente gelificante a utilizar es tan importante como la selección del material vegetal.

1.6.2.7 pH del medio de cultivo

Para el desarrollo y crecimiento de los explantes en el cultivo *in vitro*, el pH óptimo del medio de cultivo es 5,7; el rango adecuado puede variar entre 5,5 a 5,8 dependiendo de la especie (Roca & Mogrinski, 1993). Los niveles de pH por debajo de 4,5 pueden causar inhibición en la respuesta de los explantes debido a la precipitación de iones de sales y fosfatos, y por la desestabilización de los reguladores de crecimiento (Msogoya, Maerere, Nzogela, & Kusolwa, 2008).

1.6.2.8 Carbón activado

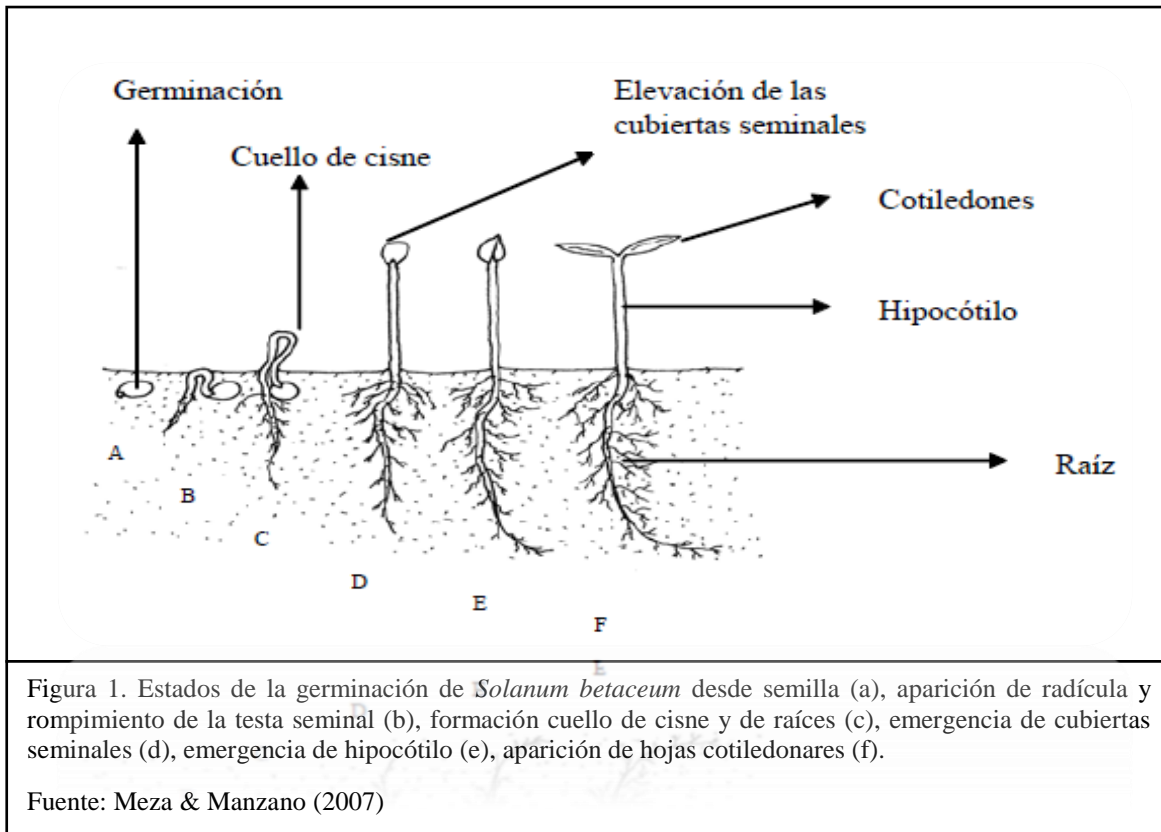
El carbón activado es un elemento poroso que atrapa compuestos principalmente orgánicos, es un adsorbente muy versátil debido a su estructura y distribución de los poros (Hernández, Giraldo, & Moreno, 2019).

Rahman, Islam, Kumar, & Begum (2005), Barragán, y otros (2020), y Quisber (2019), coinciden que el carbón activado brinda beneficios en el proceso de germinación y promueve el crecimiento de las plantas. Se recomienda utilizar carbón activado con un rango de concentración que puede variar desde el 0,1 % hasta el 9 % en relación peso-volumen (Quisbert, 2019).

El carbón activado brinda diversos beneficios a los cultivos, su uso ha favorecido la brotación en distintas especies, reduce la oxidación del material vegetal debido a la capacidad de adsorción de partículas extrañas dentro de un medio de cultivo (Vaca, y otros, 2018), se menciona además que favorece al fototropismo negativo durante el crecimiento de las raíces debido a la coloración oscura que posee (Sathyanarayana & Varghese, 2007, págs. 41-42).

1.7 Semillas y germinación del tomate de árbol

El tomate de árbol generalmente se propaga a través de semillas, es decir por reproducción sexual, y gracias a ello inicia la vida de una nueva planta, es así que Meza & Manzano (2007), consideran como germinación al proceso en el cual “la radícula emerge a través de su micrópilo y alcanza 4mm de longitud”, hasta formar la característica forma de cuello de cisne (Figura 1); posteriormente, el hipocótilo emerge a la superficie y se eliminan las cubiertas seminales, consecuentemente, se inicia el desarrollo conjunto de las hojas cotiledonares y su epicótilo, con lo cual se forma una plántula de tomate de árbol, estos son indicadores de un proceso exitoso de germinación.



1.7.1 Factores que afectan la germinación

Según Niño & Cotrino (2015), una semilla requiere algunos factores para poder cumplir su proceso de germinación, estos son:

- Viabilidad en la semilla
- Semillas libres de dormancia y latencia
- Elementos ambientales indispensables como el agua, temperatura, oxígeno y luz (fotoblastismo).

1.7.1.1 Viabilidad

Pérez, Rodríguez, Vargas & Melgarejo (2014), afirman que la viabilidad es la capacidad para lograr un proceso exitoso de germinación tomando en cuenta condiciones ambientales idóneas; además de estos factores, Santacruz, Castañeda, Gaspar, Núñez & Mora (2014), mencionan que

la calidad de las semillas y la presencia de sustancias químicas en el embrión determinan la viabilidad de que una semilla germine.

La germinación de semillas *in vitro* dependiendo de la especie, representa un desafío, *Solanum betaceum* puede presentar porcentajes de germinación que varían desde un 13 % a un 99 % (Torres, 2019). La exitosa viabilidad de las semillas de *S. betaceum* depende entre otros factores, del tiempo de almacenamiento, pues de 15 a 30 días se obtiene un 90 % de germinación; de 30 a 60 días presentan un 50 % de éxito, y entre 60 y 90 días se reducen las posibilidades de germinación a un 20 % (Bonnet & Cárdenas, 2012).

1.7.1.2 Latencia

El término latencia explica que una semilla sana e idónea no logra germinar debido a las condiciones ambientales que la rodean, además que la viabilidad y el poder germinativo de las semillas trascienden cuando las condiciones ambientales son favorables para su germinación (De la Cuadra, 1993).

En este aspecto De la Cuadra (1993), expresa que la latencia puede generarse por factores como: la presencia excesiva de agua o la escases de la misma, el exceso ocasiona que la semilla no pueda intercambiar gases con el exterior para su proceso de respiración; y la escases de agua impide la sobrevivencia de la semilla, limitando su germinación; otro factor generador de latencia es la termoinhibición, que se refiere a la fluctuación de la temperatura ya sea muy alta o baja, lo que provoca inhibición en el proceso germinativo; y por último, la presencia excesiva de luz causa una fotoinhibición pues existen semillas que requieren germinar en oscuridad.

1.7.1.3 Dormancia

Se denomina dormancia a la incapacidad de una semilla para germinar bajo condiciones favorables (Pérez, Rodríguez, Vargas, & Melgarejo, 2014). Del mismo modo, Figueroa &

Jaksic (2004), plantean que el rol fundamental de la dormancia recae en el proceso de adaptación, pues lo que pretende es evitar que las plantas surjan en condiciones ambientales desfavorables para su desarrollo; además, los autores Khurana & Singh (2001), definen a la dormancia como la capacidad de una especie para mantenerse inactiva al reducir su actividad metabólica con el fin de conservar energía, perdurando su viabilidad por un tiempo largo pero no definido.

De la Cuadra (1993, pág. 12), resalta que el mecanismo de dormición es fundamental para la supervivencia de especies y la característica de latencia promueve la germinación en un momento propicio, de esta manera la autora resalta las semejanzas en ambos procesos donde una semilla viable no puede completar su proceso de germinación.

Según De la Cuadra (1993), la dormancia se clasifica en:

- Dormancia por impermeabilidad: las cubiertas seminales son impermeables al agua, al oxígeno o ambas, a menos que su testa pueda ablandarse producto del agua, hongos o quebrarse por la variación de calor o frío.
- Dormancia embrional, conocida también como morfológica, debido a que el embrión no se encuentra en el estado ideal de madurez.
- Dormancia fisiológica: se le denomina al tiempo que le toma a una semilla germinar cuando esta es despedida de una planta al suelo a pesar de tener su embrión desarrollado en su totalidad, así como sus cubiertas totalmente permeables, conociendo a este proceso como posmaduración.

A sí también, los autores Pérez, Rodríguez, Vargas, & Melgarejo (2014), clasifican a la dormancia en:

- Termodormancia, es la aplicación de pretratamientos de temperatura para que una semilla pueda germinar, con la aplicación de una estratificación cálida se incita para estimular una

maduración tardía producto del poco desarrollo de un embrión y con una estratificación fría se desea promover un proceso de germinación donde se busca simular un invierno (3-5 °C).

- Dormancia exógena: mencionan tres categorías, la *dormancia física*, donde las cubiertas seminales son impermeables al agua limitando el intercambio gaseoso; la siguiente categoría es conocida como *dormancia mecánica*, en la cual las testas o recubrimientos son muy duros e impiden el crecimiento del embrión durante la germinación; y finalmente, la *dormancia química* que se refiere a la producción de inhibidores fisiológicos que reprimen la germinación, este caso puede ocurrir en el fruto o en la cubierta de las semillas.
- Dormancia endógena: puede ser morfológica ya que sus embriones no presentan el desarrollo adecuado en términos de tamaño, o fisiológica ya que los embriones subdesarrollados son dispersados por la planta madre.
- Dormancia combinada morfofisiológica, como su nombre lo indica, es un cúmulo de mecanismos fisiológicos y morfológicos que inhiben el desarrollo del embrión.

En este aspecto, es importante tener clara la diferencia entre el término dormancia y latencia, entendiendo que dormancia es la incapacidad de la semilla para germinar aun cuando cuenta con favorables condiciones externas; y latencia, por el contrario, indica que la semilla no germina debido a las condiciones ambientales (De la Cuadra, 1993).

1.7.1.4 Factores ambientales

Los elementos ambientales externos son fundamentales en los procesos de germinación, Finch & Leubner (2006), como se citó en Pérez, Rodríguez, Vargas & Melgarejo (2014), mencionan que la luz, temperatura, humedad y el tiempo de almacenamiento de las semillas son componentes que influyen en el proceso de la dormancia; y por su parte Walck, Hidayati, Dixon, Thompsons & Poschlod (2011), mencionan que además de la temperatura, el agua es un elemento indispensable para mermar la dormancia en las semillas.

1.7.2 Tratamientos pregerminativos

Debido a la diversidad de factores que influyen en la germinación de la semilla (latencia, viabilidad, ambiente, entre otros), se han desarrollado metodologías para promoverla. Varela & Arana (2011), indican que los tratamientos de pregerminación son todos aquellos procedimientos necesarios para romper la latencia de las semillas, es decir, tratamientos que estimulan la germinación de semillas incluso cuando las condiciones ambientales no son óptimas para su desarrollo.

Para la realización de estos tratamientos se puede trabajar con técnicas como la estratificación o escarificación manual y química (Varela & Arana, 2011).

1.7.2.1 Estratificación

En esta técnica se utilizan periodos de enfriamiento, donde las semillas a tratar son humedecidas para que el embrión pueda madurar con mayor rapidez (Hartmann & Kester, como se citó en Rodríguez, Tampe, Hormazábal, & Araneda, 2017).

Varela & Arana (2011, pág. 6), definen a la estratificación fría como aquella en la que se mantienen las semillas a temperaturas bajas (3 a 10 °C). Además, la hidratación, la exposición a enfriamiento en húmedo y el almacenamiento en frío permiten mayor porcentaje de éxito en la germinación (Abril, Ruíz, Alonso, & Cabrera, 2017, pág. 704). La estratificación en frío actúa como un promotor de la germinación, de tal manera, la temperatura es considerada como un factor importante en la germinación de la mayoría de las especies vegetales (Balaguera, Álvarez, & Cárdenas, 2010, pág. 93). Y la estratificación caliente donde a las semillas se someten a temperaturas cálidas con el fin de estimular una maduración tardía de su embrión o para debilitar sus cubiertas seminales (Pérez, Rodríguez, Vargas, & Melgarejo, 2014).

1.7.2.2 Escarificación

El proceso de escarificación en semillas es una técnica que promueve la germinación a través del rompimiento o alteración a la cubierta seminal con el fin de convertirla en permeable al agua o a gases (Varela & Arana, 2011).

1.7.2.2.1 Escarificación mecánica manual

El propósito de la escarificación manual es debilitar y/o romper la testa seminal o cubierta mediante tratamientos abrasivos y mecánicos. Para los tratamientos abrasivos se puede mencionar el uso de lijas, pinzas, tijeras o cualquier elemento que permita convertir su cubierta en permeable; y como tratamientos mecánicos están incisiones en la cubierta de la semilla, procedimientos con calor o debilitamiento de la cubierta con el uso de arena gruesa; que facilita el intercambio de oxígeno y humedad, entre el embrión y el medio ambiente (Abril et al., 2017; Valera & Arana, 2011).

1.7.2.2.2 Escarificación química-osmocondicionamiento

El osmocondicionamiento es un método efectivo que mejora la uniformidad y porcentaje de germinación (Sánchez, Mejía, Hernández, Peña, & Carballo, 2007). Se utilizan productos químicos, como el KNO_3 , que es un agente inorgánico, osmóticamente activo, importante en el proceso de imbibición en las semillas mejorando la germinación (González, Pita, Pinzón, Cely, & Serrano, 2018, pág. 60). En este proceso se resalta la acción del potasio, pues ayuda a la estabilización del pH celular de las plantas, la osmorregulación, la activación de enzimas y la tasa de asimilación del CO_2 (Hernández, Medina, Cartagena, Delgado, & Lobo, 2009).

Este método consiste en la hidratación de semillas bajo condiciones controladas, estas son sumergidas en una solución, con una concentración determinada y un tiempo establecido, retardando su deterioro fisiológico generado por la producción de radicales libres; así mismo,

el acondicionamiento osmótico permite conservar la viabilidad y acelerar el proceso de germinación de semillas de *Solanum betaceum* (Moreno & Jiménez, 2013, pág. 12).

1.7.2.2.3 Lixiviación

Por lo regular, luego de proceder con la estratificación química para la germinación, se deben eliminar los residuos de los tratamientos químicos mediante el uso de agua, dicho procedimiento es denominado como lixiviación, además este tratamiento permite mermar o suavizar la testa seminal (Varela & Arana, 2011).

Capítulo II

2. Metodología

Mediante la presente investigación se buscó definir un protocolo pregerminativo para favorecer la germinación en semillas de *S. betaceum*, sembradas de forma convencional (*ex vitro*) y mediante cultivo de tejido (*in vitro*).

2.1 Elección del explante y localización

El material vegetal inicial fue semilla de tomate de árbol, obtenida de la casa comercial Cribos, ciudad de Riobamba, y frutos adquiridos en Quito, parroquia de Calderón. El desarrollo de la investigación tuvo lugar en el laboratorio de Biotecnología Vegetal de la carrera de Ingeniería en Biotecnología de los Recursos Naturales de la Universidad Politécnica Salesiana, sede El Girón, ciudad de Quito.

2.2 Protocolo de desinfección

Previo a la introducción de *S. betaceum* se realizó un protocolo de desinfección sobre los explantes, que fueron sembrados tanto de manera *in vitro* como *ex vitro* (Anexo 1). Para el protocolo, las semillas fueron sumergidas en una solución de agua más jabón al 50 % por 5 minutos; luego se transfirió a una solución de etanol al 70 % por 30 segundos; en seguida, el material vegetal se colocó en una solución de yodo al 5 % por 10 minutos. Posteriormente, se realizaron lavados con agua destilada y se introdujeron las semillas en una solución de hipoclorito de sodio al 1,5 % por 10 minutos. Finalmente, se procedió a un nuevo lavado de las semillas con agua destilada, realizando tres enjuagues (Vaca, Masache, Meneses, & Ramirez, 2019).

2.3 Pregerminación

La etapa de pregerminación se desarrolló tomando en cuenta factores químicos y físicos, evaluados durante dos condiciones de siembra, *in vitro* y *ex vitro*. La evaluación de factores físicos consistió en la exposición de las semillas seleccionadas a horas frío y escarificación manual (Anexo 2). En la evaluación de factores químicos, los tratamientos se basaron en la hidratación de las semillas en una solución de nitrato de potasio (KNO_3) y la exposición a carbón activado. Los tratamientos pregerminativos fueron evaluados tanto *in vitro* (medio de cultivo) como *ex vitro* (sustrato).

2.3.1 Factores físicos de estudio

En esta fase se evaluaron 8 tratamientos (Tabla 3), los factores físicos en estudio fueron:

- Escarificación manual (presencia y ausencia).
- Exposición a horas frío (0, 24, 48 y 72 horas).

Tabla 3.

Tratamientos físicos para la germinación de *S. betaceum*, interacción de horas frío y escarificación manual.

Tratamiento (código)	Factor 1	Factor 2
	Escarificación	Horas frío
T1 (SEM0)	Ausencia	0
T2 (SEM24)	Ausencia	24
T3 (SEM48)	Ausencia	48
T4 (SEM72)	Ausencia	72
T5 (EM0)	Presencia	0
T6 (EM24)	Presencia	24
T7 (EM48)	Presencia	48
T8 (EM72)	Presencia	72

Elaborado por: El autor, 2020.

2.3.1.1 Tratamientos físicos evaluados *ex vitro*

Para la evaluación de horas frío y la escarificación manual, las semillas fueron expuestas a una temperatura de 3 °C por diferentes periodos (24, 48 y 72 horas), a cada semilla se le realizó un pequeño corte en la testa mediante el uso de bisturí (escarificación manual), evitando lastimar al embrión, luego las semillas de tomate de árbol fueron sembradas en un contenedor con tierra negra. Adicionalmente, se colocaron testigos a temperatura ambiente con y sin escarificación (Tabla 3). Los tratamientos fueron regados con 80 ml de agua cada 72 horas.

2.3.1.1.1 Unidad experimental

Para la siembra *ex vitro* se utilizaron contenedores de plástico transparente de medio litro, con 130 gramos de tierra negra, con 5 semillas por contenedor (Figura 2).

2.3.1.1.2 Análisis estadístico

Se empleó un diseño completamente al azar (DCA), dispuesto en arreglo factorial 2x4 (escarificación manual y exposición a horas frío), para la siembra *ex vitro*, con 25 explantes para cada tratamiento.

Se realizó un análisis de Shapiro Wilks para determinar la normalidad de los datos, con el fin de determinar datos paramétricos y no paramétricos, con ayuda del programa INFOSTAT.

Se aplicaron las pruebas de Kruskal-Wallis, ANOVA y Tukey, para las comparaciones entre los grupos; se estableció la significancia estadística, para un valor $p \leq 0,05$, y un intervalo de confianza del 95 %; se empleó como soporte informático el programa INFOSTAT.

Para los factores físicos evaluados *ex vitro* las variables valoradas fueron: germinación, días a la germinación, color de hojas, longitud del tallo, longitud de la raíz y número de hojas (variables descritas en el numeral 2.4).



2.3.1.2 Tratamientos físicos evaluados *in vitro*

Para analizar la interacción de horas frío con la técnica de escarificación manual *in vitro*, las semillas fueron expuestas a una temperatura de 3 °C por diferentes periodos (24, 48 y 72 horas), a cada semilla se le realizó un pequeño corte en la testa mediante el uso de bisturí, evitando lastimar el embrión, luego se sembraron las semillas de tomate de árbol en un tubo de ensayo con medio de cultivo M&S (Murashige & Skoog) al 50 % de sales. Adicionalmente se sembraron dos testigos a temperatura ambiente, con y sin escarificación (Tabla 3).

2.3.1.2.1 Unidad experimental

Se utilizaron tubos de ensayo de vidrio de 1,5 cm de diámetro, 8 cm de perímetro por 15 cm de altura, con 8 mL de medio de cultivo y se sembró una semilla por tubo (Figura 3).

2.3.1.2.2 Análisis estadístico

Se empleó un diseño completamente al azar (DCA), dispuesto en arreglo factorial 2x4 (escarificación manual y horas frío), para la siembra *in vitro*, con 10 explantes para cada tratamiento.

Se realizó un análisis de Shapiro Wilks para determinar la normalidad de los datos, con el fin de determinar datos paramétricos y no paramétricos, con ayuda del programa INFOSTAT.

Se aplicaron las pruebas de Kruskal-Wallis, ANOVA y Tukey, para las comparaciones entre los grupos; se estableció la significancia estadística, para un valor $p \leq 0,05$, y un intervalo de confianza del 95 %; se empleó como soporte informático el programa INFOSTAT.

Para los factores físicos, las variables valoradas en la siembra *in vitro* fueron: germinación, porcentaje de contaminación, longitud del tallo, longitud de la raíz y número de hojas (variables descritas en el numeral 2.4).



2.3.2 Evaluación de factores químicos

En esta fase se establecieron un total de 8 tratamientos (Tabla 4), los factores químicos en estudio fueron:

- Carbón activado (presencia y ausencia).
- Inmersión en nitrato de potasio (KNO_3) (0, 24, 48 y 72 horas).

Tabla 4.

Tratamientos químicos para la germinación de *S. betaceum*, interacción entre carbón activado y nitrato de potasio (KNO₃).

Tratamiento (código)	Factor 1	Factor 2
	Carbón activado	KNO ₃ (horas)
T1 (RSCA0)	Ausencia	0
T2 (RSCA24)	Ausencia	24
T3 (RSCA48)	Ausencia	48
T4 (RSCA72)	Ausencia	72
T5 (RCA 0)	Presencia	0
T6 (RCA24)	Presencia	24
T7 (RCA48)	Presencia	48
T8 (RCA72)	Presencia	72

Elaborado por: El autor, 2020.

2.3.2.1 Tratamientos químicos evaluados *ex vitro*

En el cultivo *ex vitro*, para el estudio de la interacción entre el KNO₃ y el carbón activado, las semillas fueron previamente expuestas a KNO₃ durante diferentes periodos (24, 48 y 72 horas), y sembradas en un contenedor con tierra negra a 1 cm de profundidad, conforme a los tratamientos se realizó el riego con una solución de carbón activado (400 ppm) o solo con agua (80 mL), cada 72 horas (Tabla 4).

2.3.2.1.1 Unidad experimental

Para la siembra *ex vitro* se utilizaron contenedores de plástico transparentes de medio litro, con tierra negra y se sembraron 5 semillas por contenedor (Figura 4).



Figura 4. Tratamientos químicos *ex vitro* con riego carbón activado en *Solanum betaceum*.

Elaborado por: El autor, 2020.

2.3.2.1.2 Análisis estadístico

Se empleó un diseño completamente al azar (DCA), dispuesto en arreglo factorial 2x4 (carbón activado y nitrato de potasio), para la siembra *ex vitro*, con 25 explantes para cada tratamiento.

Se realizó un análisis de Shapiro Wilks para determinar la normalidad de los datos, con el fin de determinar datos paramétricos y no paramétricos, con ayuda del programa INFOSTAT.

Se aplicaron las pruebas de Kruskal-Wallis, ANOVA y Tukey, para las comparaciones entre los grupos; se estableció la significancia estadística, para un valor $p \leq 0,05$, y un intervalo de confianza del 95 %; se empleó como soporte informático el programa INFOSTAT.

Para los factores químicos, las variables valoradas en la siembra *ex vitro* fueron: germinación, días a la germinación, color de hojas, longitud del tallo, longitud de la raíz y número de hojas (variables descritas en el numeral 2.4).

2.3.2.2 Tratamientos químicos evaluados *in vitro*

Para el estudio de la interacción entre el carbón activado y el KNO_3 , las semillas se expusieron a KNO_3 durante diferentes periodos (24, 48 y 72 horas), luego se sembraron conforme a los tratamientos, en un tubo de ensayo con medio M&S al 50 % de concentración de sales, o en un

segundo medio M&S al 50 % adicionado con carbón activado (400 ppm), conforme a los tratamientos (Tabla 4).

2.3.2.2.1 Unidad experimental

Las unidades experimentales en el cultivo *in vitro* fueron tubos de ensayo de vidrio con tapa rosca de 2 cm de diámetro, 10 cm de perímetro por 15 cm de altura, con 8 ml de medio de cultivo y dos semillas por tubo (Figura 5).

2.3.2.2.2 Análisis estadístico

Se empleó un diseño completamente al azar (DCA), dispuesto en arreglo factorial 2x4 (carbón activado y nitrato de potasio), para la siembra *in vitro*, con 20 explantes para cada tratamiento.

Se realizó un análisis de Shapiro Wilks para determinar la normalidad de los datos, con el fin de determinar datos paramétricos y no paramétricos, con ayuda del programa INFOSTAT.

Se aplicó las pruebas de Kruskal-Wallis, ANOVA y Tukey, para las comparaciones entre los grupos; se estableció la significancia estadística, para un valor $p \leq 0,05$, y un intervalo de confianza del 95 %; se empleó como soporte informático el programa INFOSTAT.

Para los factores químicos, las variables evaluadas en la siembra *in vitro* fueron: germinación, porcentaje de contaminación, longitud del tallo, longitud de la raíz y número de hojas (variables descritas en el numeral 2.4



2.4 Descripción de variables

2.4.1 Germinación

Se realizaron controles diarios de manera visual hasta observar que la radícula emergió a través del micrópilo y alcanzó 4 mm de longitud dando lugar a la característica forma de cuello de cisne en la superficie, hasta los 60 días de siembra. Para obtener el porcentaje, se dividió las semillas germinadas sobre el total de semillas sembradas por tratamiento, por 100.

2.4.2 Días a la germinación

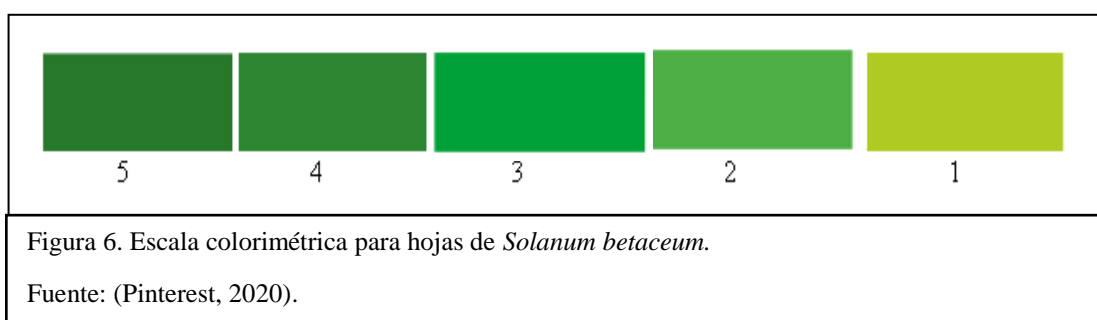
Se contabilizó el número de días que le tomó a la radícula emerger, reconociéndolo a través de su característica forma denominada “cuello de cisne”.

2.4.3 Porcentaje de contaminación

Para la evaluación *in vitro*, se contabilizó la presencia o ausencia de microorganismos, tanto en el medio de cultivo como en el explante, en los tubos de ensayo de vidrio. Para obtener el porcentaje se multiplicó por 100 con respecto al total de elementos en cada tratamiento.

2.4.4 Color de hojas

A través de una escala de tipo cuantitativa se evaluó el color de la hoja de *S. betaceum* (Figura 2), al final de la fase, se observó el color de hojas de cada plántula, asignando un valor de 5 al color verde hierba (Pantone 364), 4 al verde mayo (Pantone 363), 3 al verde brillante (Pantone 370), 2 al color verde (Pantone 368), 1 al verde amarillento (Pantone 375) (PANTONE, 2017).



2.4.5 Longitud del tallo

Se midió la longitud de la plántula en centímetros desde el cuello del tallo hasta el segundo nudo al final del epicótilo con ayuda de papel milimetrado, al final de la evaluación.

2.4.6 Longitud de la raíz

La evaluación de la longitud de la raíz se realizó al final de la fase de germinación, con ayuda de un papel milimetrado, se midió en centímetros desde el cuello de la raíz principal hasta el extremo mayor de las raíces secundarias de cada plántula.

2.4.7 Número de hojas

Por medio de observación directa se realizó el conteo de hojas por cada planta, cada 7 días hasta el final de la fase de germinación.

2.5 Siembra de las semillas

2.5.1 Siembra o cultivo *ex vitro*

Para la siembra *ex vitro* de *S. betaceum* se desinfectaron contenedores de medio litro de plástico transparente con etanol al 70 % por 2 minutos, y se colocó 130 g de tierra negra, misma que fue previamente esterilizada mediante calor húmedo (agua 100 °C). Una vez listos los contenedores, se sembraron las semillas a 1 cm de profundidad y fueron regados cada 72 horas, conforme a los tratamientos.

2.5.2 Siembra o cultivo *in vitro*

El medio de cultivo utilizado en el estudio fue Murashige y Skoog (M&S) con una concentración de sales al 50 % enriquecido con agar tipo I, adicionado con 20 g/L de azúcar y ajustado a un pH 5,5. Para la evaluación de la acción del carbón activado se adicionó el reactivo al medio de cultivo en una concentración de 400 ppm. El medio fue esterilizado a 121 °C, 15 PSI durante 20 minutos y se dispensó en tubos de ensayo.

Para la introducción *in vitro* de *S. betaceum* se utilizó la cámara de flujo laminar, que previamente fue desinfectada con etanol al 70 % y luz UV durante 15 minutos; además el instrumental fue esterilizado por calor seco a 160 °C. La introducción *in vitro* de semillas de tomate de árbol se realizó en el área de transferencia, se sembraron dos semillas por tubo, mismos que se sellaron, etiquetaron y fueron colocados en el área de incubación bajo condiciones controladas, con un fotoperiodo de 16/8 y una temperatura de 24±2 °C.

Capítulo III

3. Resultados y discusión

3.1 Tratamientos físicos *ex vitro*

Para la siembra *ex vitro*, a partir de los ocho tratamientos realizados, mediante la evaluación de escarificación manual y la exposición a horas frío, se realizó el análisis estadístico (Tabla 5), para todas las variables.

Para el factor escarificación manual, se encontraron diferencias significativas conforme a la Prueba de Kruskal-Wallis para las variables germinación y color de hojas ($p \leq 0,05$); y conforme a la Prueba de ANOVA para las variables longitud del tallo, longitud de la raíz y número de hojas ($p \leq 0,05$); mientras que, la variable días a la germinación no presentó diferencias estadísticas (Kruskal-Wallis $p > 0,05$). Para el factor horas frío, las variables que presentaron diferencia significativa fueron: germinación y color de hojas evaluadas con la prueba de Kruskal-Wallis ($p \leq 0,05$), y para longitud del tallo, longitud de la raíz y número de hoja con la Prueba de ANOVA ($p \leq 0,05$); mientras que, la variable días a la germinación no presentó diferencias estadísticas ($p > 0,05$) (Tabla 5). Respecto a los tratamientos (interacción escarificación y horas frío), todas las variables presentaron diferencia significativa ($p \leq 0,05$).

Tabla 5.

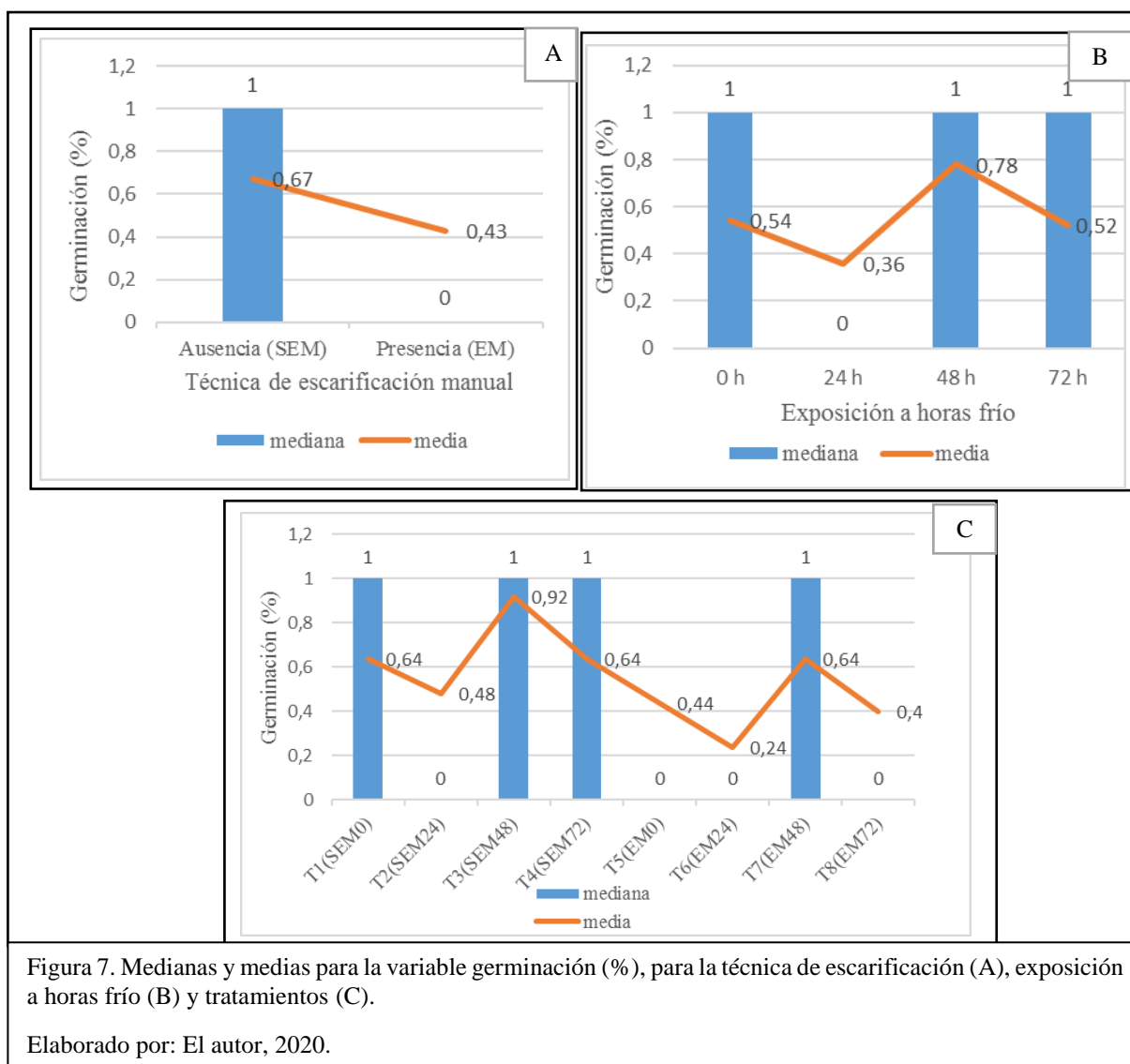
Medianas para las variables germinación, días a la germinación y color de hojas; y, medias para las variables longitud del tallo, longitud de la raíz y número de hojas, para los tratamientos pregerminativos físicos evaluados *ex vitro*.

Factores	Descripción	Germinación	Días a la germinación	Color de hojas	Longitud del tallo (cm)	Longitud de la raíz (cm)	Número de hojas
EM	Ausencia (SEM)	1,0b	28,0	4a	2,1b	4,8b	2,0b
	Presencia (EM)	0,0a	29,0	5b	1,5a	3,4a	1,4a
HF	0	1,0b	27,0	5b	1,8ab	3,4ab	1,7ab
	24	0,0a	28,5	5b	1,2a	2,5a	1,2a
	48	1,0b	29,0	4a	2,2b	5,0b	2,2b
	72	1,0b	30,0	5b	1,9ab	5,4b	1,7ab
EM x HF	T1(SEM0)	1,0b	23,5a	4ab	2,1ab	3,4ab	1,9ab
	T2(SEM24)	0,0a	25,5ab	5bc	1,5ab	3,9ab	1,6ab
	T3(SEM48)	1,0b	28,0bc	4a	2,6b	5,7b	2,6b
	T4(SEM72)	1,0b	33,5d	5c	2,2ab	6b	2,0ab
	T5(EM0)	0,0a	29,0bcd	5c	1,5ab	3,5ab	1,5ab
	T6(EM24)	0,0a	33,0cd	4,5abc	0,9a	1,1a	0,8a
	T7(EM48)	1,0b	29,0cd	4,5abc	1,9ab	4,3ab	1,7ab
	T8(EM72)	0,0a	24,5ab	5c	1,6ab	4,9b	1,4ab

Letras diferentes en la misma columna indican diferencia significativa $p \leq 0,05$. EM Escarificación Manual, HF Exposición a Horas Frío, EM x HF Tratamientos.

Elaborado por: El autor, 2020

3.1.1 Germinación



La técnica de escarificación sobre las semillas de *S. betaceum*, influyó en el porcentaje de germinación (Tabla 5), ya que las semillas que no fueron escarificadas alcanzaron una mediana de 100 % de germinación y una media de 67 %; mientras que, las semillas escarificadas presentaron una mediana de 0 % y una media de 43 % (Figura 7a). Los resultados son similares a lo reportado por Meza y Manzano (2007), quienes muestran un resultado de 93 % de germinación en semillas de tomate de árbol sin aplicar tratamientos pregerminativos. Alfaro (2015), observó una disminución en el porcentaje de germinación de semillas de Kudzú después

del proceso de escarificación, ya que el efecto físico destruye el tegumento de las semillas, pero no tiene un efecto directo en el embrión.

Para el factor exposición a horas frío sobre las semillas, se encontró que a 0, 48 y 72 h presentaron una mediana de 100 % de germinación, y la mayor media fue de 78 % que se presentó a las 48 horas frío (Figura 7b). Varela & Arana (2011), resaltan que las bajas temperaturas (4 °C – 10 °C) otorgan humedad a las semillas, y reproducen el periodo de inactividad que tiene lugar durante el invierno, además la estratificación en frío rompe la latencia fisiológica; en cambio Fernández, Giayetto & Cholaky, (2000), como se citó en Caroca, Zapata, & Vargas (2016), afirman que las temperaturas bajas afectan la germinación, sobre todo en especies de climas cálidos, subtropicales y tropicales; sin embargo, el tomate de árbol al ser de origen andino, se vio favorecido con 48 horas frío. Los resultados presentados en esta investigación se pueden atribuir a que la temperatura tiene un efecto sobre el proceso de germinación asociado a las enzimas que regulan la velocidad de las reacciones bioquímicas internas de la semilla, después de que se rehidratan (Rajjou et al., 2012, como se citó en Caroca, Zapata, & Vargas, 2016).

El tratamiento T3 (SEM48) presentó una mediana del 100 % y una media de 92 % de germinación (Figura 7c), y se suman los tratamientos T1 (SEM0), T4 (SEM72) y T7 (EM48) compartiendo el mismo rango estadístico en su mediana (100 %) y con un valor de media de 64 % de germinación, siendo en su mayoría tratamientos sin escarificación. Bradbeer (2013), explica que el proceso de escarificación manual no asegura una germinación exitosa en varias especies estudiadas y que se requiere otro procedimiento como la estratificación fría, lo que concuerda con los resultados obtenidos en esta investigación. Además, Abril et al. (2017), asegura que la metodología de escarificar junto al almacenamiento en horas frío puede generar hasta un 50 % de germinación.

3.1.2 Días a la germinación

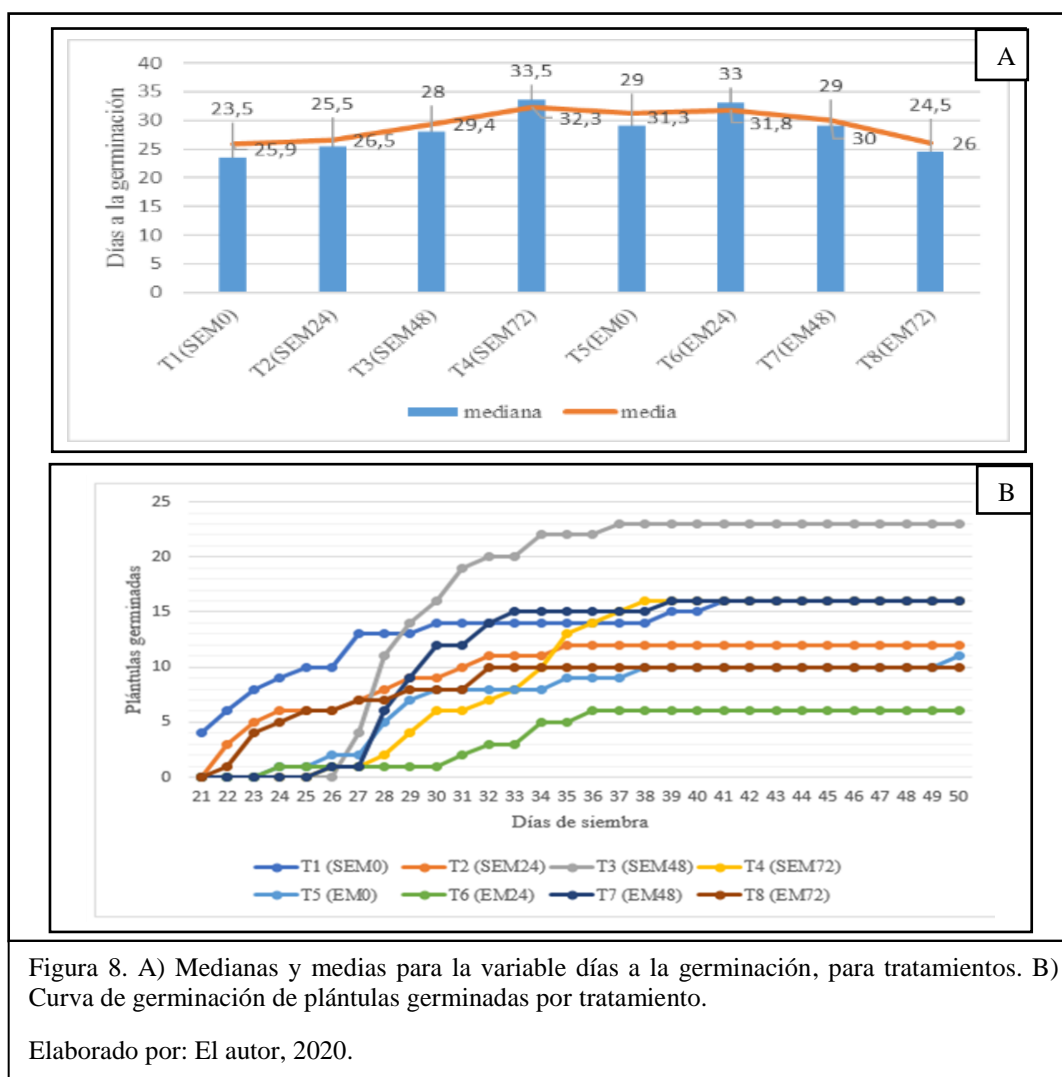


Figura 8. A) Medianas y medias para la variable días a la germinación, para tratamientos. B) Curva de germinación de plántulas germinadas por tratamiento.

Elaborado por: El autor, 2020.

El mejor tratamiento para la variable días a la germinación fue T1 (SEM0), con una mediana igual a 23,5 días, y un promedio de 25,9 días (Tabla 5, Figura 8), siendo este tratamiento el más precoz en comparación con los otros tratamientos. Meza & Manzano (2007), reportaron inicios de germinación a los 10 días en *S. betaceum* pero sin escarificar la semilla; por su parte Murillo, Hoyos & Chavarriaga (2017), indican que escarificaron a las semillas de tomate de árbol, y a los 15 días inició su proceso de germinación (57 %); y Flores, Cáceres & Aguirre (2020), observaron un proceso de germinación más rápido en semillas de soya al realizar escarificación manual, y mencionan que la escarificación es efectiva pues determina el inicio de la

germinación y el desarrollo de las plántulas; lo que sugiere que el efecto de la escarificación difiere según la especie.

T1 (SEM0) fue el tratamiento con mayor precocidad, sin embargo T3 (SEM48) que germinó a los 28 días (Tabla 5, Figura 8) presentó el mayor número de plantas germinadas a partir de los 30 días hasta los 50 días (Figura 8b); la precocidad germinativa, como lo indica Rodríguez & Orellana (1990), influyen en la capacidad biológica, limita el proceso de fotosíntesis, reduce la biomasa de la planta y por ende el rendimiento; autores como Leiva (1977); Pliego, López, & Aragón (2013) y Rodríguez & Orellana (1990) atribuyen características negativas a la precocidad. Se puede visualizar en la Figura 8b, que los tratamientos que presentaron germinación precoz no son los que mostraron mayor número de plantas.

3.1.3 Color de hojas

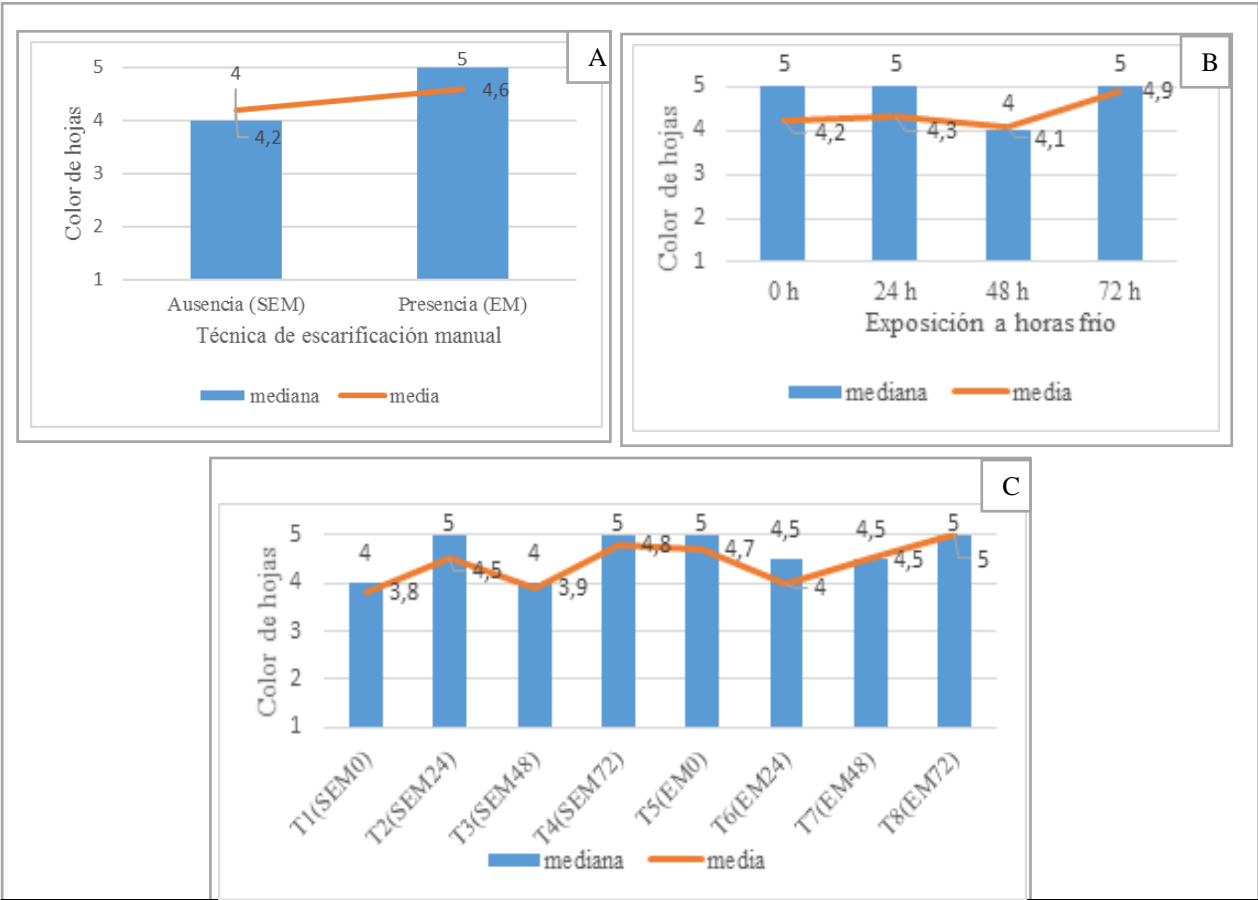


Figura 9. Medianas y medias para la variable color de hojas, para la técnica de escarificación (A), exposición a horas frío (B) y tratamientos (C).

Elaborado por: El autor, 2020.

Las semillas que fueron escarificadas presentaron un color de hoja “verde hierba” (mediana de 5 y una media de 4,6 en la escala colorimétrica), en comparación con las semillas que no fueron escarificadas, que presentaron una coloración “verde mayo” (mediana igual a 4 y una media de 4,2 en la escala colorimétrica) (Tabla 5, Figuras 6, 9a), la escarificación manual ablanda la testa de las semillas, aumentando la humedad en el embrión, acelerando los procesos metabólicos internos, provocando movilización de reservas (Doria, 2010), a su vez, los cambios bioquímicos, favorecen al desarrollo de los apoplastos, que pueden favorecer el transporte de fotoasimilados hacia el cloroplasto, mejorando la actividad fotosintética y el aumento el contenido de clorofila (Matilla, 2008); esto sugiere que escarificar favorece a la sanidad y el desarrollo de los explantes; la sanidad de una planta se puede observar en la coloración de las hojas, así Posada, Peña, & Ulrichs (2011), relacionan a la coloración de la hoja con la clorofila, es decir, a mayor coloración en la hoja, mayor concentración de clorofila, lo que indica un mejor estado de salud en la planta.

La exposición a 72 horas frío resaltó el mejor resultado con el color “verde hierba” (mediana de 5 y una media de 4,9 en la escala colorimétrica), seguido por la exposición a 24 horas que presentó una coloración entre “verde hierba” (mediana de 5) y coloración “verde mayo” (media de 4,3), y de igual manera la exposición a 0 horas que mostró una coloración entre “verde hierba” (mediana de 5) y coloración “verde mayo” (media de 4,2) (Tabla 5, Figuras 6, 9b). Los colores mencionados por estos tratamientos son favorables y demuestran la sanidad en las plantas de *S. betaceum*. Stefanowska, et al. (1999), mencionan que el frío puede favorecer las características de las células epidérmicas, aumentando la expansión celular mesófila de las hojas, lo que se puede reflejar en la coloración. Por otra parte, la exposición a distintas horas frío está reportado como un factor favorable en el desarrollo de distintas especies (Kaye & Kuykendall, 2001; Benvenuti, 2016).

Estadísticamente, los mejores tratamientos fueron T4 (SEM72), T5 (EM0) y T8 (EM72) (Tabla 5, Figura 9c), obtuvieron la mejor coloración presentando un color “verde hierba” (Figura 10), con un valor de mediana 5 y valores de media de 4,8; 4,7 y 5, respectivamente; de acuerdo a la escala colorimétrica (Figura 6), lo que representa sanidad en las plantas de tomate de árbol; estos tratamientos se basaron en la interacción de la técnica de escarificación manual y la exposición a horas frío.



Figura 10. Color de hojas de *Solanum betaceum* en tratamientos físicos *ex vitro*.

Elaborado por: El autor, 2020.

3.1.4 Longitud del tallo

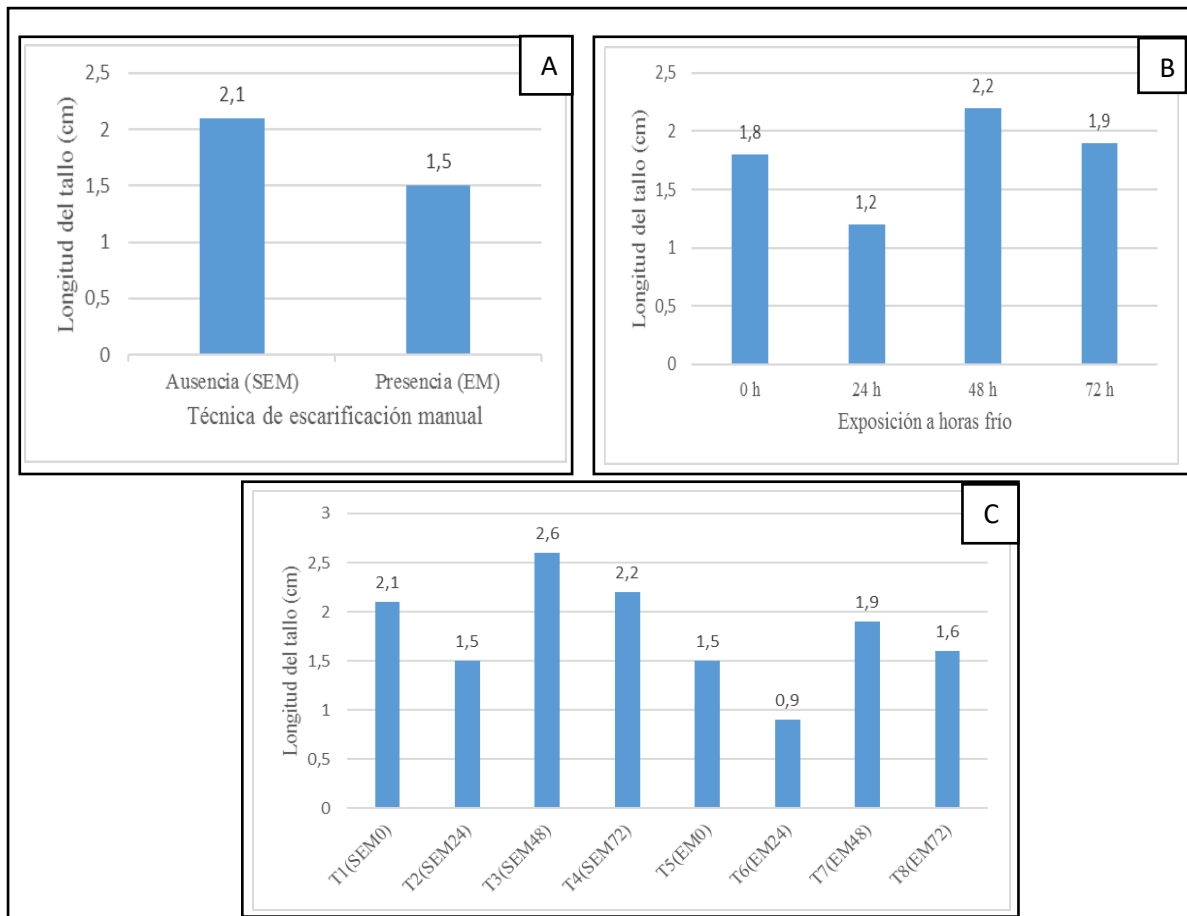


Figura 11. Medias para la variable longitud del tallo, para la técnica de escarificación (A), exposición a horas frío (B) y tratamientos (C).

Elaborado por: El autor, 2020.

La variable longitud del tallo presentó diferencias estadísticas (Tabla 5), las semillas no escarificadas presentaron la mayor longitud, con una media de 2,1 cm (Figura 11a), en cuanto a la exposición de las semillas a horas frío, las 48 horas presentó el mejor promedio con 2,2 cm (Figura 11b) y para tratamientos los resultados muestran que T3 (SEM48) arrojó la mayor media de 2,6 cm en comparación a los demás tratamientos (Tabla 5, Figura 11c). En esta investigación a las semillas no escarificadas les tomó mayor tiempo germinar (Figura 8b) lo cual favoreció al mayor desarrollo, lo que se visualiza en la longitud del tallo Bidwell (1979), como se citó en Manotoa (2012), afirma que una semilla sin modificación alguna contiene todas

sus reservas nutritivas almacenadas en su interior, lo que estimulará una mayor actividad en los meristemas apicales, y conllevará a un alargamiento de sus entrenudos. Rodríguez & Orellana (1990), mencionan que la capacidad biológica se ve afectada por la precocidad germinativa ya que reduce la biomasa de la planta y con ello el desarrollo de sus estructuras, como el tallo. Al contrario de los resultados obtenidos por, Manotoa (2012), que obtuvo 2,05 cm de longitud de tallo al aplicar la técnica de escarificación mecánica en *Olean europea*; además Achupallas (2019), resalta que la metodología de escarificación mecánica en semillas de *Annona cherimola* L. desarrolló beneficiosamente su tallo, resultando la escarificación manual como el mejor tratamiento en su investigación, lo que confirma que el efecto de la escarificación es diferente en cada especie.

3.1.5 Longitud de raíz

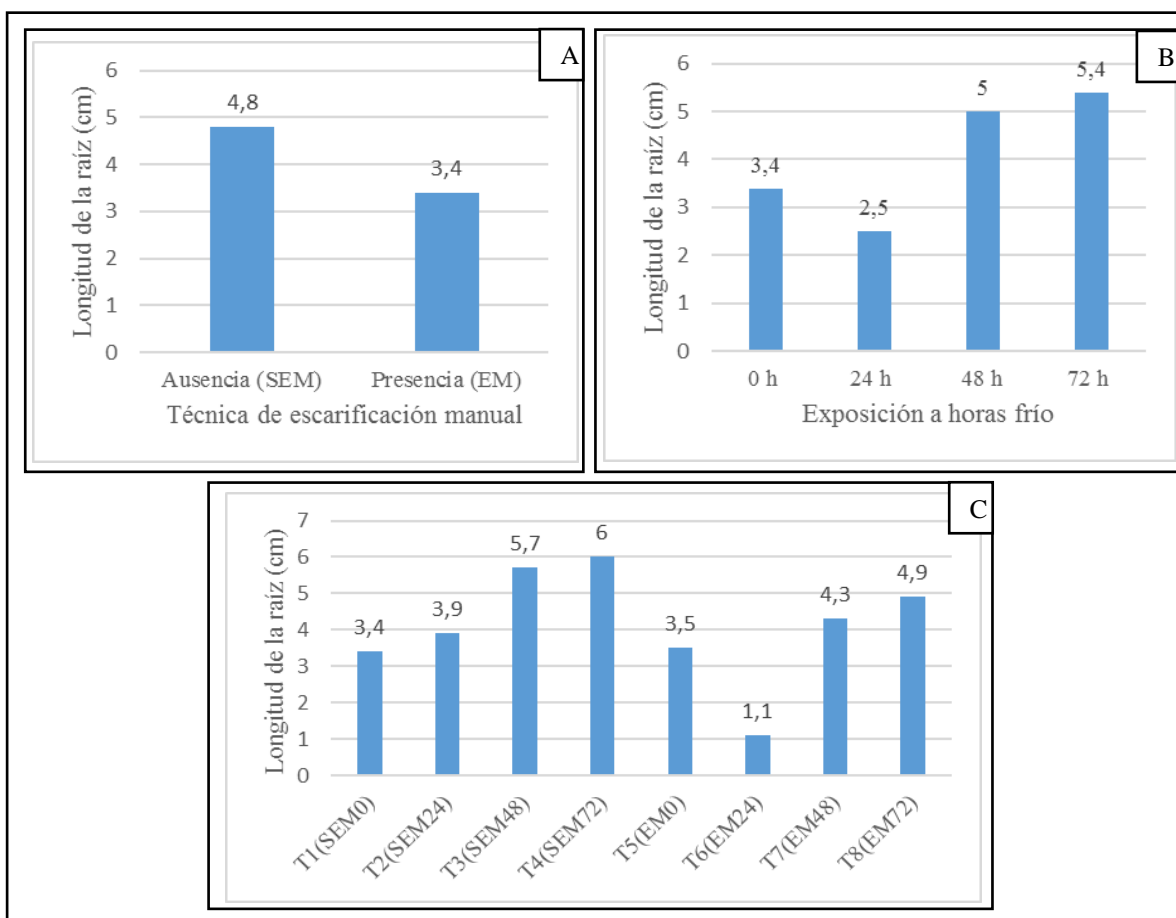


Figura 12. Medias para la variable longitud de raíz, para la técnica de escarificación (A), exposición a horas frío (B) y tratamientos (C).

Elaborado por: El autor, 2020.

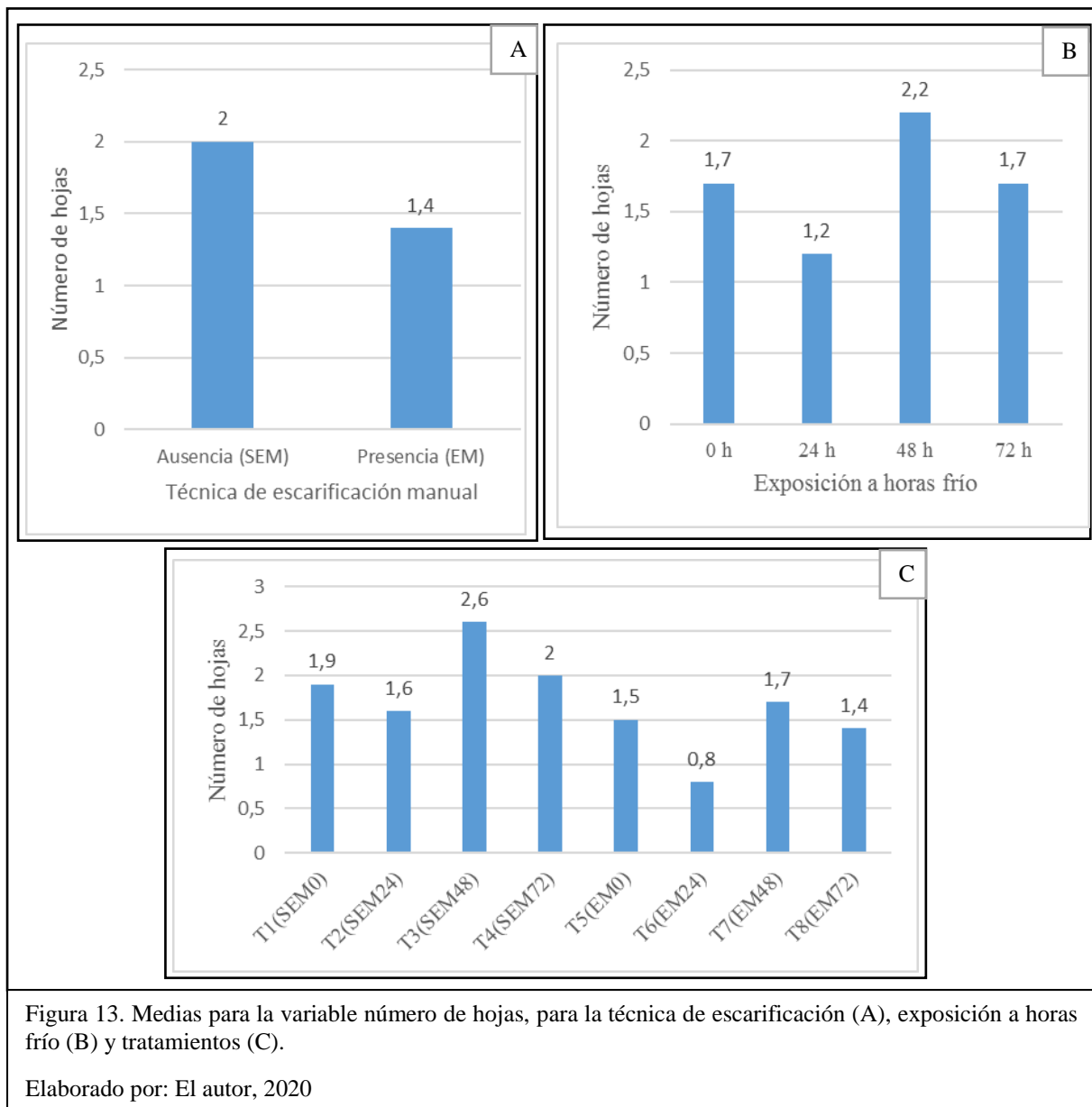
La escarificación en las semillas de tomate de árbol influyó en el desarrollo de la longitud de raíz, ya que las semillas que no fueron escarificadas presentaron la mejor media de 4,8 cm en comparación con las que fueron escarificadas con una media igual a 3,4 cm (Tabla 5, Figura 12a). Esto puede estar relacionado al tiempo de germinación, ya que en semillas sin escarificación se observó un periodo prolongado de crecimiento, lo que favoreció el desarrollo optimo de los órganos de las plántulas (Figura 8b); esto se debe a que la semilla cumplió su proceso fisiológico programado, cumpliendo su germinación y con ello el desarrollo de todas sus estructuras (Meza &Manzano, 2007). Contrario a los resultados de Hanco & Sucari (2017), quienes indican que, a menor tiempo de germinación, se obtuvo un mayor desarrollo biológico de la especie.

La exposición a 72 horas frío mejoró el desarrollo de raíces, al presentar la mayor media con 5,4 cm de raíz, seguido por la exposición a 48 horas, que presentó una media de 5 cm de raíz (Tabla 5, Figura 12b); y, en cuanto a los tratamientos T3 (SEM48), T4 (SEM72) y T8 (EM72) comparten la misma media estadística, con valores de 5,7; 6 y 4,3 cm de longitud de raíz, respectivamente (Tabla 5, Figura 12c). Fischer, Torres, & Torres (1997), indican que la temperatura fría es óptima para el desarrollo radicular de una planta, y la formación de pelos radiculares se atribuye al descenso de la temperatura; además Larcher 1994, como se citó en Fischer, Torres, & Torres (1997), mencionan que a temperaturas de 2 °C se desarrolla el sistema radicular incluso antes de la brotación. Además, es necesario resaltar que en el presente estudio se desarrolló la raíz en ausencia de reguladores de crecimiento, contrario a varios autores que sugieren el uso de distintos reguladores, por ejemplo; Chamorro et al. (2007), menciona que la utilización de BAP en la especie *Limonium* var. Misty blue presenta una mediana de 6 cm en su longitud de raíz.

En esta especie favoreció también la interacción escarificación y 72 horas frío (T EM72). La escarificación manual permite ablandar la testa de la semilla, aumenta la hidratación en el

embrión, provocando cambios metabólicos tales como la respiración y el transporte de reservas, favoreciendo un alargamiento celular (Doria,2010); facilitando que la radícula emerja y desarrolle su sistema radicular.

3.1.6 Número de hojas



La técnica de escarificación sobre las semillas de tomate de árbol influyó sobre el número de hojas, ya que las semillas que no fueron escarificadas presentaron una media de 2,0 hojas por explante, en comparación con las que fueron escarificadas con una media igual a 1,4 hojas

por explante (Tabla 5, Figura 13a), esto puede asociarse a la precocidad de germinación de las semillas, ya que los explantes que no fueron escarificados tomaron más tiempo en germinar y presentaron un mejor desarrollo de la planta. Rodríguez & Orellana (1990), afirman que la precocidad reduce la biomasa vegetal, lo que conlleva a la reducción del número de yemas foliares, y por tanto un menor número de hojas; de esta manera la precocidad puede estar inmersa en alteraciones morfológicas, que conlleven a suprimir un desarrollo normal de una especie. Al contrario, Maldonado (2015), no encontró diferencias significativas, para la variable número de hojas en *Vachellia macracantha* con la metodología de escarificación mecánica. Lo que permite inferir que cada especie podría tener una capacidad de respuesta morfogénica diferente, en relación al proceso de escarificación.

Se observó diferencia significativa en el desarrollo de hojas, al exponer a 48 horas frío las semillas de *S. betaceum* alcanzaron una media de 2,2 hojas por explante (Tabla 5, Figura 13b). Además, el tratamiento T3 (SEM48) presentó el mejor resultado, mostrando una media de 2,6 hojas por cada plántula (Tabla 5, Figura 13c) en comparación con los otros tratamientos. Así Meza & Manzano (2007), atribuyen a que el proceso de escarificación manual puede tener un efecto negativo ya que la acción mecánica sobre la semilla puede dañar el embrión, lo que comprometería su germinación y posterior desarrollo. Por otra parte, la aplicación de horas frío está reportada como beneficiosa para varias especies Kaye & Kuykendall (2001); Benvenuti (2016). Stefanowska, et al.(1999), mencionan que el frío puede afectar las características de las células epidérmicas, lo que puede favorecer al engrosamiento de la lámina de la hoja.

3.2 Tratamientos físicos *in vitro*

Todos los tratamientos físicos *in vitro* presentaron 0 % de germinación, por ende, no pudieron ser evaluadas las demás variables (contaminación, longitud de tallo, longitud de raíz y número de hojas). Para el desarrollo de esta fase de la investigación, las semillas de *S. betaceum* se

mantuvieron almacenadas sobre los 90 días, pudiendo presentar una pérdida de viabilidad por el tiempo de almacenamiento; el autor Bonnet & Cárdenas (2012, pág. 828), menciona que las semillas pierden su viabilidad a mayor tiempo de almacenamiento. De tal manera que, se puede asumir que el cultivo *in vitro* y el almacenamiento, influenciaron negativamente en la respuesta de las semillas. Pliego, López, & Aragón (2013) atribuyen a un déficit hídrico, producido por la sacarosa en el medio mediante osmolitos, lo que puede reducir el porcentaje de germinación. Por otra parte, se descarta la pérdida de explantes por contaminación en el medio de cultivo, ya que en este caso la contaminación fue menor al 5 % y esto concuerda con lo expuesto por Pelacho, Martín-Closas, & Safeliu (2006), que mencionan que un adecuado procedimiento para el cultivo *in vitro* debe presentar porcentajes de contaminación menores al 5 %.

3.3 Tratamientos químicos *ex vitro*

Se realizó el análisis estadístico (Tabla 6), para las variables germinación, días a la germinación, color de hojas, longitud del tallo, longitud de la raíz y número de hojas, para la exposición a nitrato de potasio (KNO_3), exposición a carbón activado y la interacción de ambos factores.

Para el factor exposición a nitrato de potasio (KNO_3) a diferentes periodos, se encontraron diferencias significativas conforme a la Prueba de Kruskal-Wallis para las variables germinación, días a la germinación ($p \leq 0,05$); y conforme a la prueba de ANOVA para las variables longitud del tallo, longitud de la raíz y número de hojas ($p \leq 0,05$); no así para la variable color de hojas ($p > 0,05$) (Tabla 6).

Para el factor riego con carbón activado, no se encontró diferencia significativa para las variables (Tabla 6).

Tabla 6

Medianas para las variables germinación, días a la germinación y color de hojas; y, medias para las variables longitud del tallo, longitud de la raíz y número de hojas, para los tratamientos pregerminativos químicos evaluados *ex vitro*.

Factores	Descripción	Germinación	Días a la germinación	Color de hojas	Longitud del tallo (cm)	Longitud de la raíz (cm)	Número de hojas
KNO₃	0	1,0c	24a	5	2,6c	5,8bc	2,5b
	24	0,0a	25,5ab	4,5	1,2a	2,9a	1,4a
	48	1,0bc	26b	5	2,2bc	6,3c	1,9ab
	72	1,0ab	32b	5	1,6ab	4,0ab	1,8ab
RCA	Ausencia (RSCA)	1,0	26	5	2	4,8	2
	Presencia (RCA)	1,0	25,5	5	1,8	4,7	1,8
RCA x KNO₃	T1(RSCA0)	1,0cd	22	5	2,7c	5,9bc	2,5
	T2(RSCA 24)	0,0ab	29,5	4	1,1a	2,4a	1,3
	T3(RSCA 48)	1,0cd	26	4	2,0abc	5,7abc	1,9
	T4(RSCA 72)	1,0bc d	27	5	2,2abc	5,4abc	2,3
	T5(RCA0)	1,0d	24	5	2,5bc	5,7abc	2,4
	T6(RCA 24)	0,0ab c	25	5	1,4ab	3,4abc	1,5
	T7(RCA 48)	1,0cd	33	5	2,4bc	6,8c	2
	T8(RCA 72)	0,0a	33	5	1,0a	2,7ab	1,2

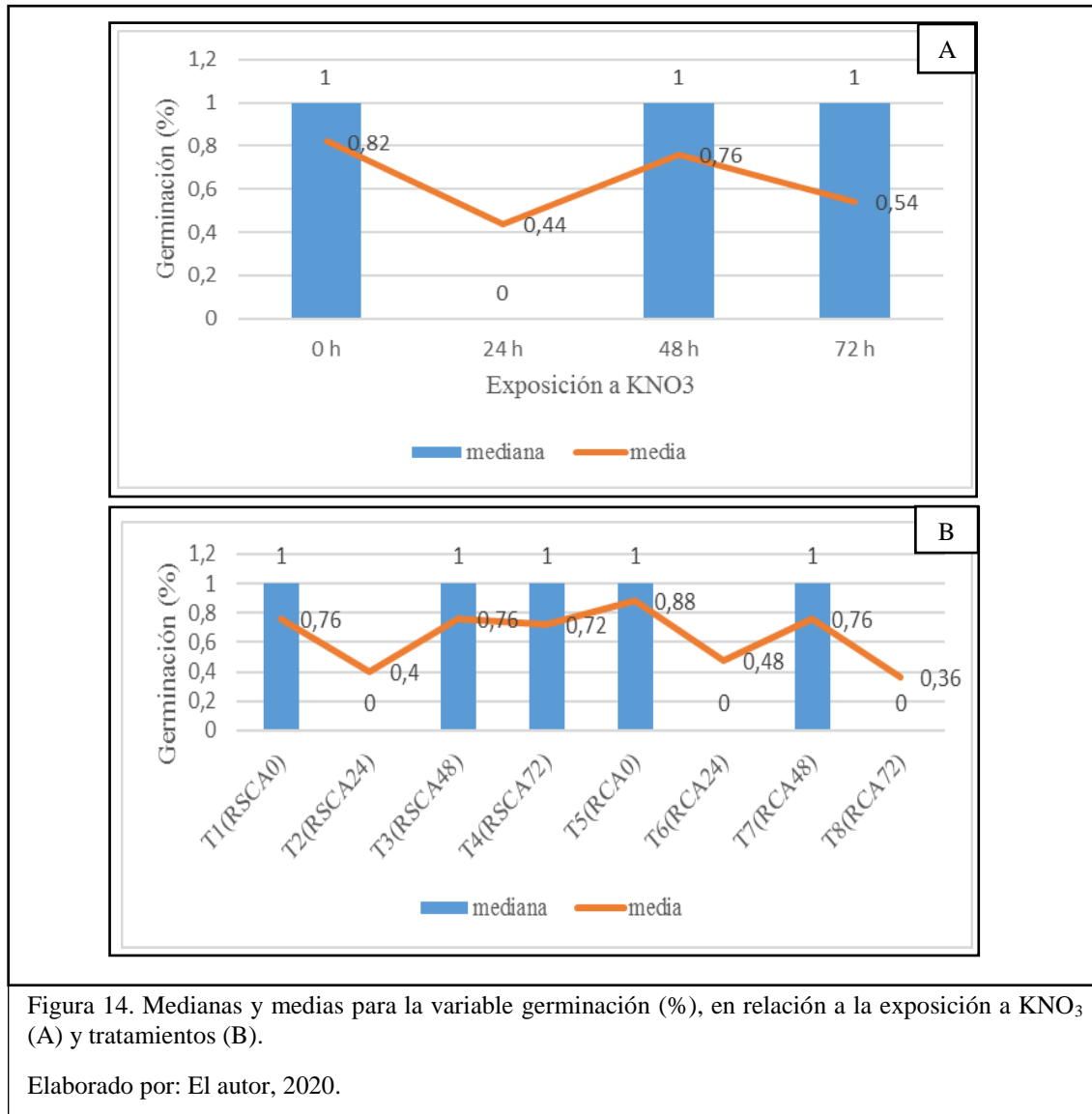
Letras diferentes en la misma columna indican diferencia significativa ($p \leq 0,05$). KNO₃ Exposición a KNO₃ a distintas horas, RCA Riego Carbón activado, RCA x KNO₃, Tratamientos

Elaborado por: El autor, 2020.

Para los tratamientos (interacción entre exposición KNO₃ y carbón activado), se encontraron diferencias significativas conforme a la Prueba de Kruskal-Wallis para la variable germinación ($p \leq 0,05$); de igual manera conforme la prueba de ANOVA para las variables longitud del tallo y longitud de la raíz ($p \leq 0,05$); al contrario, las variables días a la germinación y color de hojas

($p > 0,05$), así como número de hojas ($p > 0,05$) no presentaron diferencias significativas (Tabla 6).

3.3.1 Germinación



El análisis estadístico mostró que el mejor tratamiento para la germinación fue el testigo, es decir no exponer a las semillas a KNO₃, al presentar una mediana de 100 % y un promedio de 82 % de germinación (Tabla 6, Figura 14a). Al respecto, Manotoa (2012), indica que si las semillas no presentan modificaciones y conservan sus propios nutrientes se estimula el aumento de la actividad metabólica para poder iniciar su proceso germinativo; por su parte Moller &

Smith (2001), como se citó en González et al. (2018), mencionan que los periodos de acondicionamiento osmótico deben ser cortos, debido a que los iones de los agentes osmóticos ingresan en la semilla y dañan al embrión, lo que genera una interrupción en el proceso de germinación.

En esta investigación, la exposición a 48 horas del KNO_3 mostró una mediana de 100 % y un promedio de 76 % de germinación, siguiendo de cerca al testigo, KNO_3 permitió una adecuada hidratación y adsorción en el embrión presente en la semilla lo que favoreció su germinación. González et al. (2018), señala que el KNO_3 es un elemento osmóticamente activo que reduce el potencial hídrico, controla el nivel de imbibición en la semilla y mejora su germinación; la imbibición rompe con la latencia de la semilla al activarse enzimas y un proceso de hidrólisis que resulta en la expansión del embrión (Ogbuehi, Madukwe, & Ashilonu, 2013), y Singh (2020), atribuye a que el KNO_3 aumenta la actividad del citocromo, lo que conlleva a romper su latencia. Es importante resaltar que la diversidad de respuestas a diferentes tiempos de exposición puede ser atribuidos a la especie. Medina & Suanca (2013), indicaron que la exposición de semillas de tomate de árbol a KNO_3 por 24 horas muestra un 88 % de germinación, así también González et al. (2018), reporta que el uso de KNO_3 en *Dianthus barbatus* L. durante 6 horas presentó un 82 % de germinación.

Referente al factor de exposición al carbón activado, los resultados indican que no existió diferencia significativa para las variables. Respecto a los tratamientos, se encontró que T5 (RCA0) presentó una mediana de 100 % y una media de 88 % de germinación, siendo este tratamiento estadísticamente diferente (Tabla 6), seguidos por los tratamientos T1 (RSCA0), T3 (RSCA48) y T7 (RCA48) con una mediana del 100 % y una media de 76 % de germinación, y T4 (RSCA72) con una mediana de 100 % y media de 72 % de germinación (Figura 14b). T5 (RCA0) fue regado con carbón activado; el carbón activado posee una red fina de poros que le permite adsorber elementos tóxicos, favorece en procesos morfogénesis que conllevan a un

buen desarrollo en la planta (Vaca et al., 2018). Pedroza (2009), afirma que el carbón activado garantiza un buen desarrollo fisiológico de las plántulas, y de esta forma su supervivencia, incluso puede adsorber sustancias químicas producidas directamente por la planta.

3.3.2 Días a la germinación

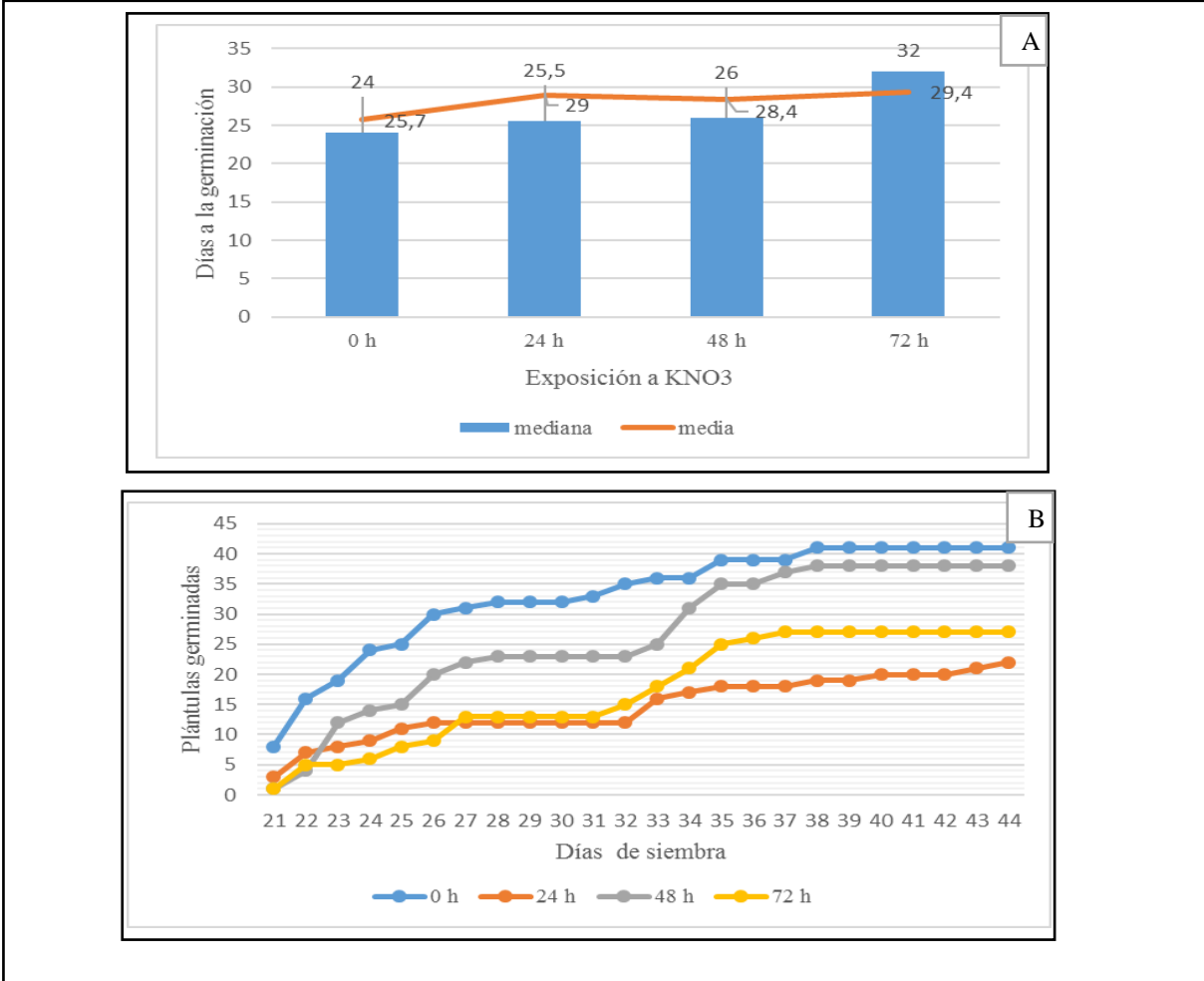


Figura 15. A) Medianas y medias para la variable días a la germinación, para exposición a KNO₃. B) Curva de plántulas germinadas por exposición a KNO₃.

Elaborado por: El autor, 2020.

Para el factor exposición a KNO₃, el testigo (0 h) fue el tratamiento que mostró la mejor precocidad germinativa con una mediana de 24 días y una media de 25,7 días a la germinación, seguido por la exposición a 24 horas a KNO₃ con una mediana de 25,5 días y una media de 29 días a la germinación (Tabla 6, Figura 15a); la exposición a KNO₃ fue inhibitoria en la germinación, por ende el testigo se vio favorecido, pues las semillas que no fueron inmersas en

el elemento osmoacondicionador, no presentaron alguna variación interna, de manera que su actividad metabólica aumentó y consiguó su proceso de germinación natural.

El KNO_3 puede romper la latencia de las semillas, con aporte de nitratos sobre la ruta metabólica relacionada con su fitocromo, lo que le permite promover su pronta germinación (González et al., 2018), de esta manera el osmoacondicionamiento, mejora la uniformidad y la germinación (Sánchez, Mejía, Hernández, Peña, & Carballo, 2007) aumentando así, la precocidad en las semillas de *S. betaceum*. Como se visualiza en esta investigación, la exposición a 24 horas mostró precocidad en el proceso de germinación, siguiendo de cerca el testigo (Figura 15a).

En la figura 15b se observa que en el testigo (0 h) presentó precocidad y alcanzó un mayor número de plantas (41) al final de la fase, por otra parte, la exposición a 48 h, pese a no ser el tratamiento más precoz, siguió de cerca al testigo en el número de plantas (38). Varios autores mencionan que el uso de KNO_3 ayudó en el proceso de germinación como un tratamiento pregerminativo (Medina & Suancha, 2013; González et al., 2018; Gandini, 2018; Andrade, Laurentin, & Hernán, 2015); y, Moller & Smith (2001), como se citó en González et al. (2018), mencionan que los periodos de acondicionamiento osmótico deben ser cortos debido a que las iones de los agentes osmóticos ingresan en la semilla y dañan al embrión, lo que generaría una interrupción en el proceso de germinación. Es necesario mencionar que varios autores como Rodríguez & Orellana (1990); Leiva (1977) y Pliego, López, & Aragón (2013), atribuyen características negativas a la precocidad en las semillas.

El riego con carbón activado no fue determinante en el proceso de días a la germinación, así como los tratamientos, ya que no mostraron diferencias significativas (Tabla 6).

3.3.3 Color de hojas

El análisis estadístico arrojó que para los factores exposición a KNO_3 , riego con carbón activado; y para los tratamientos, la variable color de la hoja no presentó diferencias

significativas (Tabla 6), mostrando una coloración entre “verde mayo” y “verde hierba” con unas medianas de 4 y 5 en la escala colorimétrica (Figura 6).



Figura 16. Color de hojas de *Solanum betaceum* en tratamientos químicos *ex vitro*.

Elaborado por: El autor, 2020.

3.3.4 Longitud del tallo

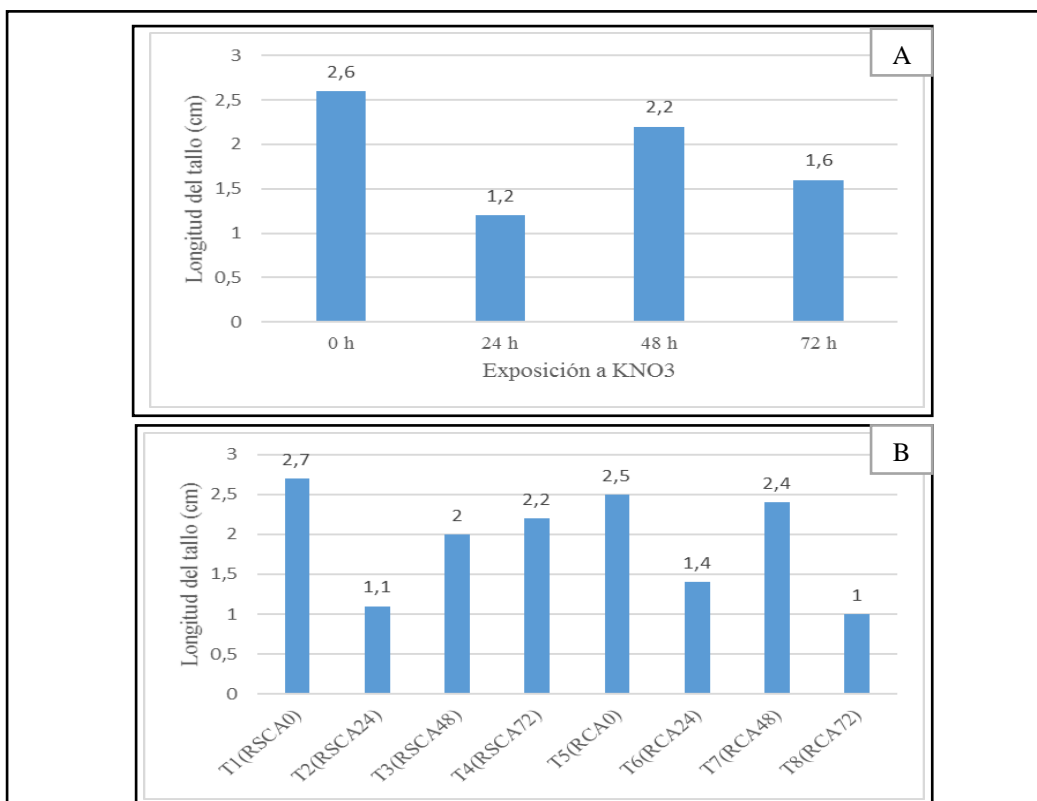


Figura 17. Medias para la variable longitud de tallo, en relación a la exposición a KNO_3 a distintas horas (A) y tratamientos (B).

Elaborado por: El autor, 2020

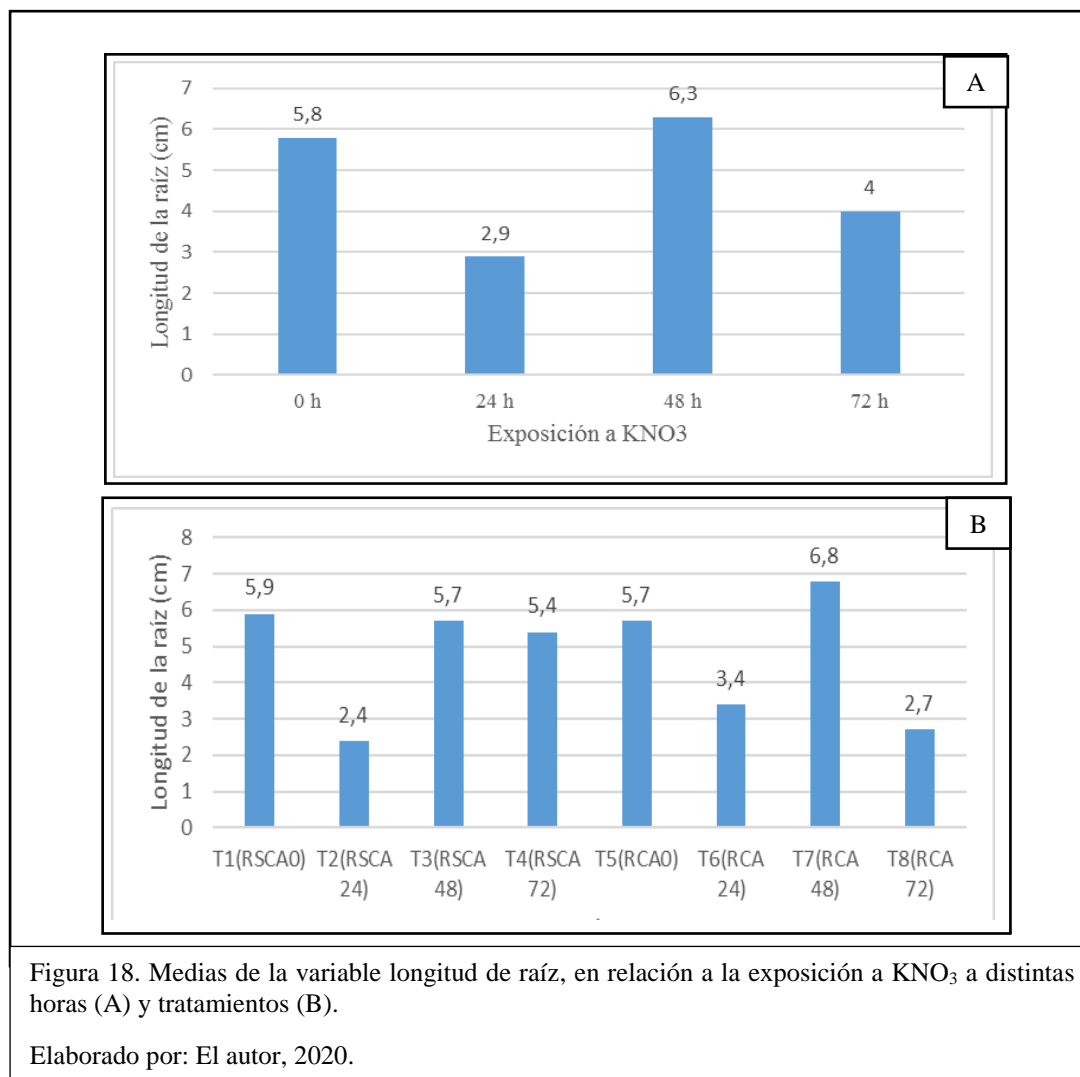
Los resultados muestran que la longitud del tallo presentó mejores resultados en ausencia de KNO_3 , con una media de 2,6 cm (Tabla 6, Figura 17a); la exposición de la semilla a KNO_3 llegaron a afectar el desarrollo de la planta, en este caso la longitud del tallo. Benítez, Lobo, Delgado, & Medina (2013), reportaron que existió baja germinación en semillas de *Vasconcellea cundinamarzensis* al aplicar KNO_3 . Rodríguez & Florez (2004), mencionan que el potasio puede tener un efecto negativo, reduciendo el tamaño de los entrenudos del tallo y una menor biomasa; además, el exceso de potasio afecta la regulación osmótica de las plantas, lo que ocasiona una menor capacidad de retención y traslado de agua en los tejidos de la planta (Rodríguez, 1998).

Por otra parte, el riego con carbón activado no fue determinante en el proceso de longitud del tallo, ya que no mostró diferencias significativas (Tabla 6). El tratamiento testigo T1 (RSCA0) presentó el mejor valor para longitud del tallo con una media de 2,7 cm de tallo (Tabla 6, Figura 17b). Moreno & Jiménez (2013), indican que la presencia de KNO_3 produce radicales libres, producto de la imbibición de la semilla y esto puede retardar el desarrollo fisiológico en la planta. Moller & Smith (2001), como se citó en González et al. (2018), mencionan que los periodos de acondicionamiento osmótico deben ser cortos debido a que los iones de los agentes osmóticos ingresan en la semilla y dañan al embrión. Al contrario Gandini (2018), reportó crecimiento y desarrollo de biomasa en tomate de árbol, al aplicar KNO_3 por 24 horas, sin embargo el mismo autor explica que el elemento osmoacondicionador aplicado a mayor exposición de tiempo, tiende a adsorber mayor cantidad de potasio, concentrando este nutriente en el xilema, lo cual disminuiría el desarrollo celular en los tejidos.

Los tratamientos que le siguieron al testigo fueron T5 (RCA0) y T7 (RCA48), que fueron regados con carbón activado, lo que favoreció su crecimiento; Pedroza (2009), indica que el carbón activado está involucrado en el desarrollo fisiológico de plántulas; Rayas, et al. (2020), mencionan que el desarrollo y viabilidad del tejido del tallo, aumenta por la presencia del carbón

activado y Pedroza & Serrato (2010), mencionan que el carbón activado mejora el desarrollo de las células meristemáticas que ayudan al desarrollo del tallo.

3.3.5 Longitud de raíz



Entre los factores químicos, la exposición a KNO₃ por 48 horas presentó el mejor desarrollo de raíces, con una media de 6,3 cm (Tabla 6, Figura 18a). El riego con una solución de carbón activado no refleja diferencia significativa (Tabla 6). Por su parte se identificó que el tratamiento T7 (RCA48) con una media de 6,8 cm de raíz, mostró diferencias significativas respecto a los demás tratamientos (Tabla 6, Figura 18b). Balocchi, López, & Lukaschewsky (1997), afirman que la aplicación de KNO₃ desde 0 hasta 7 días, mejora la viabilidad en

semillas, desarrollando plántulas normales. Por su parte González et al. (2018), mencionan que los nitratos presentes en el KNO_3 favorecen al efecto en su ruta metabólica en relación con su fitocromo, mostrando uniformidad en el proceso de germinación lo que estaría relacionado al desarrollo de sus raíces.

La exposición a KNO_3 por 48 horas favoreció el desarrollo de la longitud de la raíz; Rajamanickam & Anbu, 2001, como se citó en Singh (2020), afirman que el nitrato de potasio acelera el crecimiento en la región de los meristemas de la planta, lo que generaría un mayor desarrollo en las raíces. El uso de KNO_3 en el desarrollo de raíces mostró un valor de 3,8 cm en *Laelia anceps* subsp. *Anceps* (Castillo, Maldonado, Alonso, & Carranza, 2019), y los autores Bonza, Pinzón, & Álvarez (2016), resaltan que el KNO_3 promovió el desarrollo de la raíz en *Allium cepa* L.; por su parte, Gandini (2018), reportó crecimiento y desarrollo de biomasa en plantas de tomate al aplicar KNO_3 por 24 horas.

El mejor tratamiento T7 (RCA48), que contiene carbón activado, respecto al cual se conoce que está involucrado en el desarrollo fisiológico de las plántulas. Vaca et al. (2018), afirman que el uso de carbón activado promueve el desarrollo de las raíces de *Citrus limon* L.; y, en *Solanum lycopersicum* (Singh, y otros, 2016).

Además, es necesario resaltar que en el presente estudio se desarrolló la raíz en ausencia de reguladores de crecimiento, contrario a varios autores que sugieren el uso de distintos reguladores, por ejemplo; Chamorro et al. (2007), recomiendan el uso de BAP para el desarrollo de la raíz.

3.3.6 Número de hojas

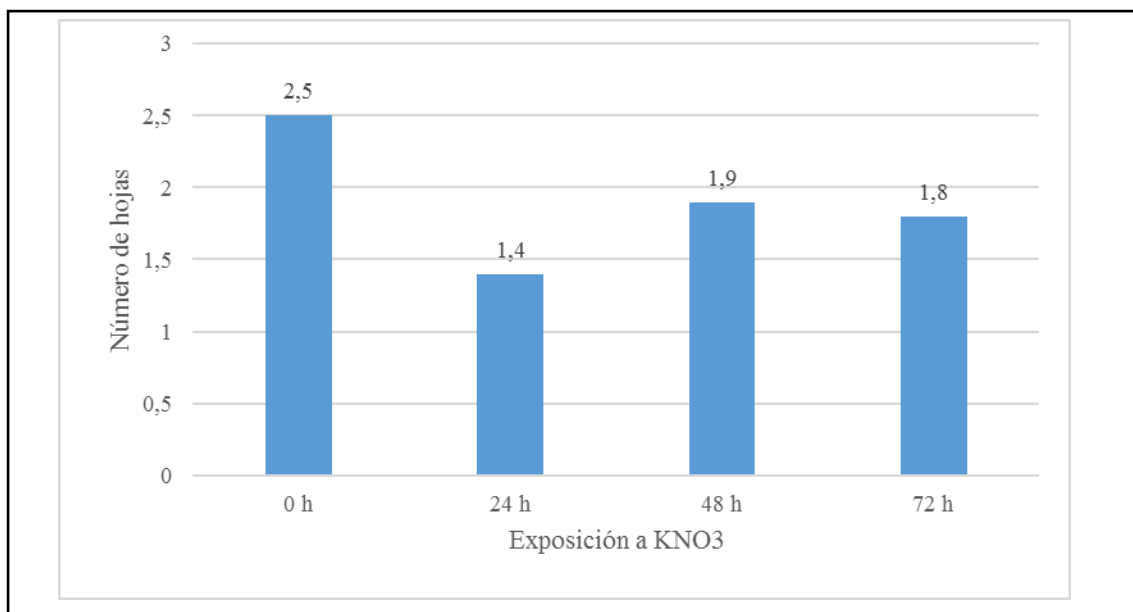


Figura 19. Medias para la variable número de hojas, en relación a la exposición a KNO₃ a distintas horas.

Elaborado por: El autor, 2020.

El factor exposición a KNO₃ sobre las semillas del tomate de árbol, influyó en el número de hojas, siendo el testigo el mejor tratamiento, con una media de 2,5 hojas por plántula, presentando diferencia significativa con respecto a las demás horas de exposición (Tabla 6, Figura 20); similar resultado se presentó en la variable longitud del tallo, donde su testigo presentó la mayor longitud con respecto a los otros tratamientos (Tabla 6, Figura 17b). La imbibición de la semilla en el KNO₃ puede retardar el desarrollo fisiológico generado por la producción de radicales libres (Moreno & Jiménez, 2013); y, a una exposición prolongada de potasio puede inhibir procesos de osmorregulación, reducir la tasa de asimilación del CO₂ y afectar el mecanismo de activación de enzimas (Moreno & Jiménez, 2013). El uso de KNO₃ mostró un efecto negativo en el rendimiento de hojas en *Stevia rebaudiana* (Mahajan, Sharma, Kumar, & Pal, 2020). En el caso del testigo, la semilla cumplió su proceso fisiológico programado, es decir, cumplió su proceso de germinación, y sus hojas se originaron de los meristemas apicales del tallo (Meza & Manzano, 2007).

3.4 Tratamientos químicos *in vitro*

A partir de los ocho tratamientos realizados, mediante la evaluación de la exposición del KNO_3 a distintos periodos y el carbón activado en el medio de cultivo, se realizó el análisis estadístico (Tabla 7), para todas las variables.

Para el factor exposición a KNO_3 en el cultivo *in vitro*, no se encontraron diferencias significativas para todas las variables (Tabla 7). Para el factor carbón activado en el medio de cultivo, las variables que presentaron diferencia significativa fueron germinación (Prueba de Kruskal-Wallis $p \leq 0,05$), y, para la Prueba de ANOVA, la longitud del tallo, longitud de la raíz y número de hojas ($p \leq 0,05$); mientras que, la variable contaminación no presentó diferencias estadísticas ($p > 0,05$). Respecto a los tratamientos (exposición a KNO_3 y carbón activado), para la Prueba de ANOVA, las variables que presentaron diferencia significativa fueron longitud de la raíz y número de hojas ($p \leq 0,05$); mientras que, las variables germinación, porcentaje de contaminación y longitud del tallo no presentaron diferencias estadísticas ($p > 0,05$) (Tabla 7).

Tabla 7.

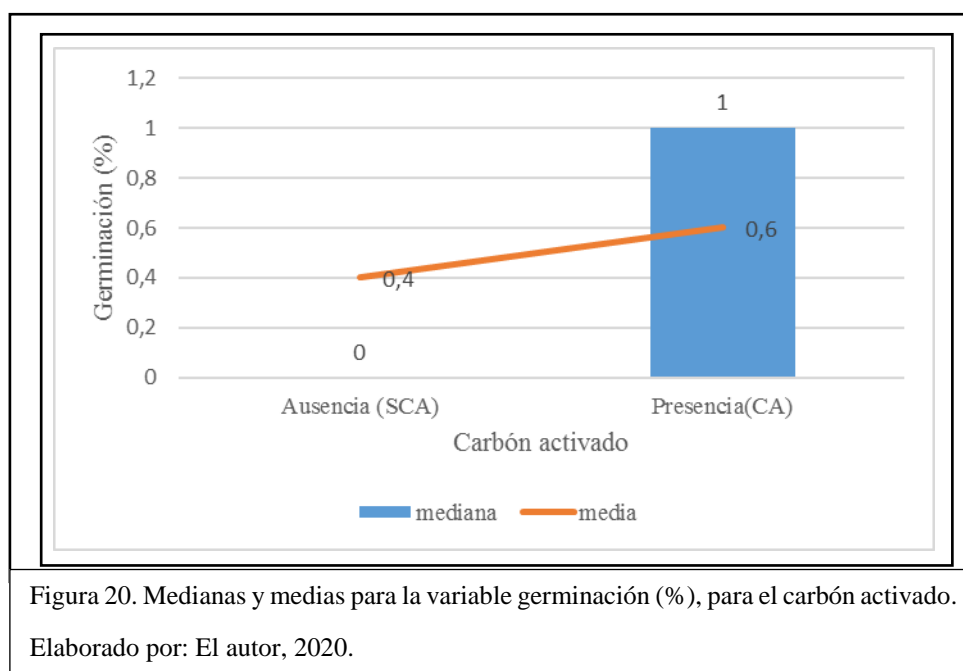
Medianas para las variables germinación y contaminación; y, medias para las variables longitud del tallo, longitud de la raíz y número de hojas, para los tratamientos pregerminativos químicos evaluados *in vitro*.

Factores	Descripción	Germinación	Contaminación (%)	Longitud del tallo (cm)	Longitud de la raíz (cm)	Número de hojas
KNO₃	0	0	0	1	1	0,9
	24	0	0	1,6	1,5	1,7
	48	0	0	0,7	0,8	0,6
	72	0	0	1,2	1,2	1,6
CA	Ausencia (SCA)	0,0a	0	0,72a	0,72a	0,6a
	Presencia (CA)	1,0b	0	1,53b	1,54b	1,7b
CA x KNO₃	T1 (SCA0)	0	0	0,8	0,7ab	0,5a
	T2 (SCA24)	0	0	1,1	1,1ab	1,0ab
	T3 (SCA48)	0	0	0,6	0,7ab	0,6a
	T4 (SCA72)	0	0	0,3	0,4a	0,4a
	T5 (CA0)	1	0	1,3	1,3ab	1,2ab
	T6 (CA24)	1	0	2	1,9ab	2,3ab
	T7 (CA48)	0	0	0,7	0,9ab	0,5a
	T8 (CA72)	1	0	2,1	2,0b	2,9b

Letras diferentes en la misma columna indican diferencia significativa ($p \leq 0,05$). KNO₃ Exposición a KNO₃ a distintas horas, CA Carbón activado, CA x KNO₃ Tratamientos.

Elaborado por: El autor, 2020

3.4.1 Germinación



El medio de cultivo adicionado con 400 ppm de carbón activado, presentó el mejor porcentaje para la variable germinación, con una mediana 100 % y una media de 60 % (Tabla 7, Figura 20). Referente a la presencia del carbón activado, Vaca et al. (2018), afirman que este reactivo favorece el proceso de germinación en las semillas y la precocidad, los mismos autores presentaron en su estudio un 100 % de germinación en 42 días en la especie *Citrus limon* (L), además indican que el carbón activado puede ir liberando paulatinamente los componentes del medio adsorbidos, favoreciendo su respuesta en el cultivo. En este aspecto, Medina & Suancha, (2013); González et al. (2018); Gandini, (2018); Laurentin & Andrade, (2015); y Pedroza (2009), afirman que el carbón activado muestra una tasa de germinación mucho mayor, que aquellos tratamientos que no lo aplican, confirmando los resultados obtenidos en la presente investigación.

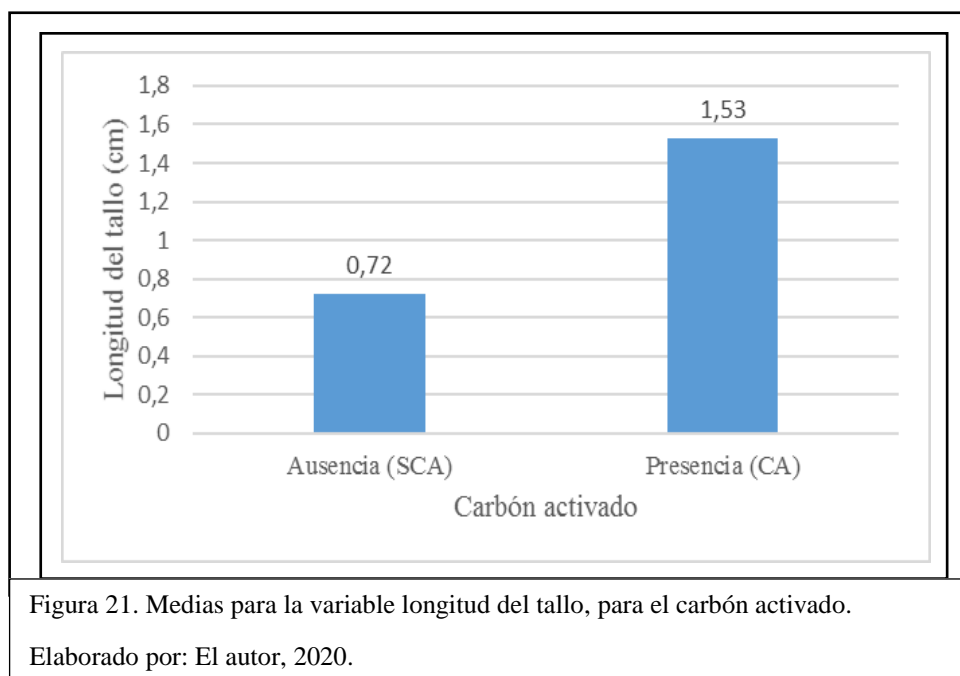
La germinación de semillas de *S. betaceum* no mostró diferencia significativa para el factor exposición a KNO_3 ni para los tratamientos (Tabla 7). Sin embargo, Torres (2019), reportó en

S. betaceum porcentajes de germinación que varían desde un 13 % a un 99 % exponiendo las semillas a KNO_3 .

3.4.2 Contaminación

El análisis estadístico arrojó que para la exposición a KNO_3 , carbón activado y los tratamientos, la variable contaminación no presentó diferencias significativas, con una mediana de 0 % (Tabla 7).

3.4.3 Longitud del tallo

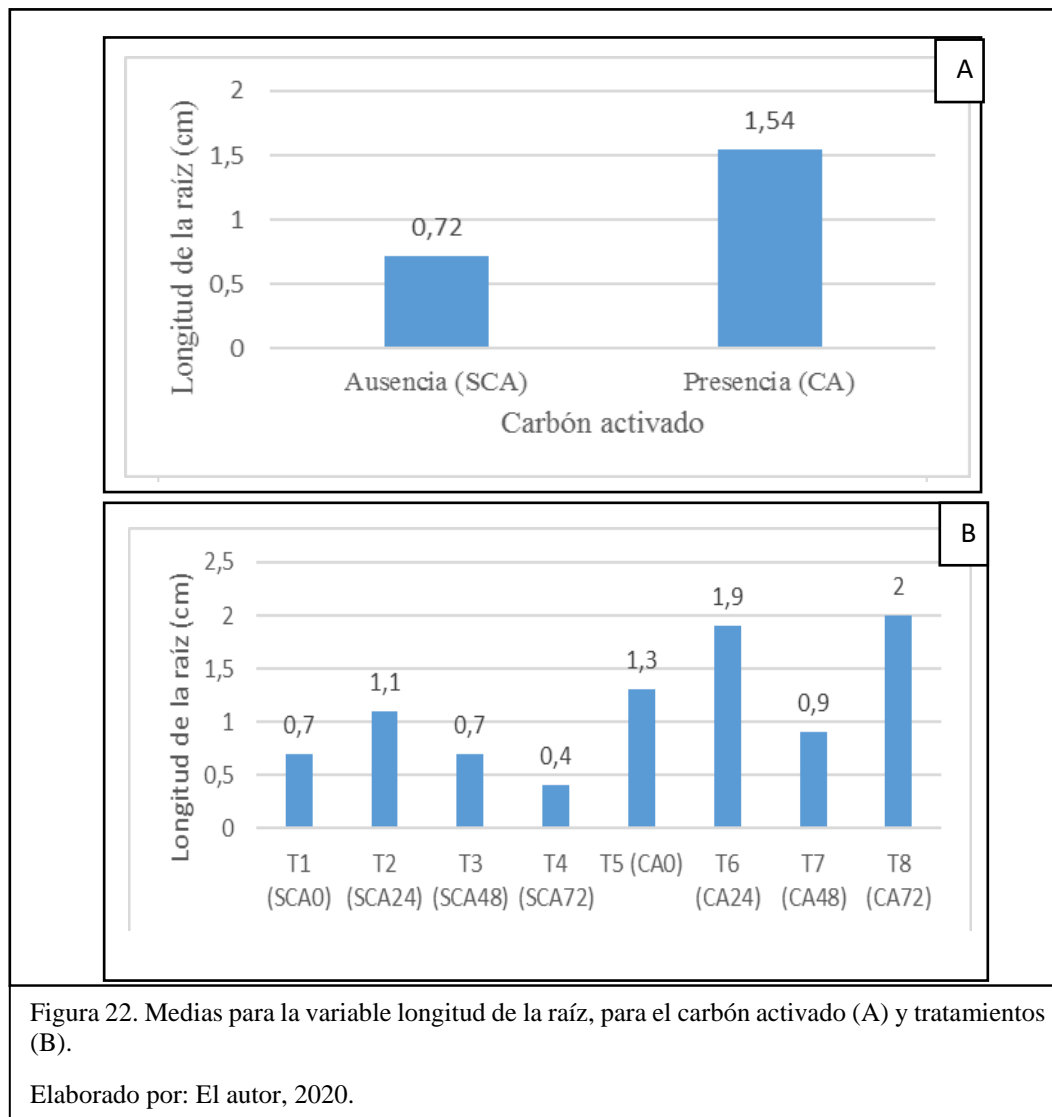


La adición de 400 ppm de carbón activado en el medio de cultivo influyó sobre el desarrollo de la longitud del tallo, ya que las semillas de *S. betaceum* sembradas en dicho medio presentaron la mayor media con 1,53 cm de tallo, en comparación con las semillas que no fueron expuestas a carbón activado con una media igual a 0,72 cm de tallo (Tabla 7, Figura 21). Jiménez & Guevara (1996), mencionan que el uso de carbón activado en un medio sólido puede aumentar en mayor volumen los tejidos de los explantes, en este caso se obtuvo un mayor desarrollo, el doble de altura del tallo en comparación con el medio sin carbón activado. Pedroza (2009),

encontró que utilizar una concentración de 0,5 % de carbón activado en el medio de cultivo, influyó a un mayor desarrollo caulinar, concentración parecida a la empleada en esta investigación.

En cuanto a el factor exposición a KNO_3 a distintas horas y para los tratamientos la variable longitud del tallo no presentaron diferencias significativas, sin embargo, T8 (CA72) mostró el mayor promedio de longitud (2,1 cm) entre los tratamientos (Tabla 7).

3.4.4 Longitud de raíz



Para el factor exposición a KNO_3 a distintas horas no existe diferencia significativa (Tabla 7). El análisis estadístico para el factor carbón activado indica que su adición al medio de cultivo presentó la mejor longitud de raíz, con una media de 1,54 cm (Tabla 7, Figura 22a). El tratamiento T8 (CA72) mostró una media de longitud de raíces de 2,0 cm, catalogándolo como el mejor tratamiento ya que presenta diferencias significativas con respecto a los demás tratamientos (Tabla 7, Figura 22b).

Pedroza, Serrato & Castaño (2010), reportaron que el carbón activado puede adsorber toxinas, como el etileno que inhibe el crecimiento, así como los compuestos fenólicos con el fin de evitar la oxidación fenólica en el explante, además el carbón activado cambia el clima luminoso, permitiendo la formación de las raíces. Vaca et al. (2018), exponen que el carbón activado le permite adsorber elementos tóxicos por su red fina de poros, lo que favorece a la plántula en sus procesos de morfogénesis y le permite desarrollarse, los mismos autores, señalan que el uso de carbón activado promovió el desarrollo de las raíces de *Citrus limon* L.; y, Singh, y otros, (2016), de la especie *Solanum lycopersicum*. Por último, los autores Castillo, et al. (2019), reportan que el uso de KNO_3 a 72 horas más carbón activado ayudó en el desarrollo de la raíz de *Laelia anceps* subsp. *anceps* alcanzando los 3,8 cm de longitud.

El investigador Drew (1975), menciona que el nitrato de potasio se transporta dentro del sistema radicular, de esta manera promueve su crecimiento. De igual manera, Zheng, et al. (2016), afirman la importancia de los nitratos en la planta, pues el déficit puede afectar el desarrollo del sistema radicular.

3.4.5 Número de hojas

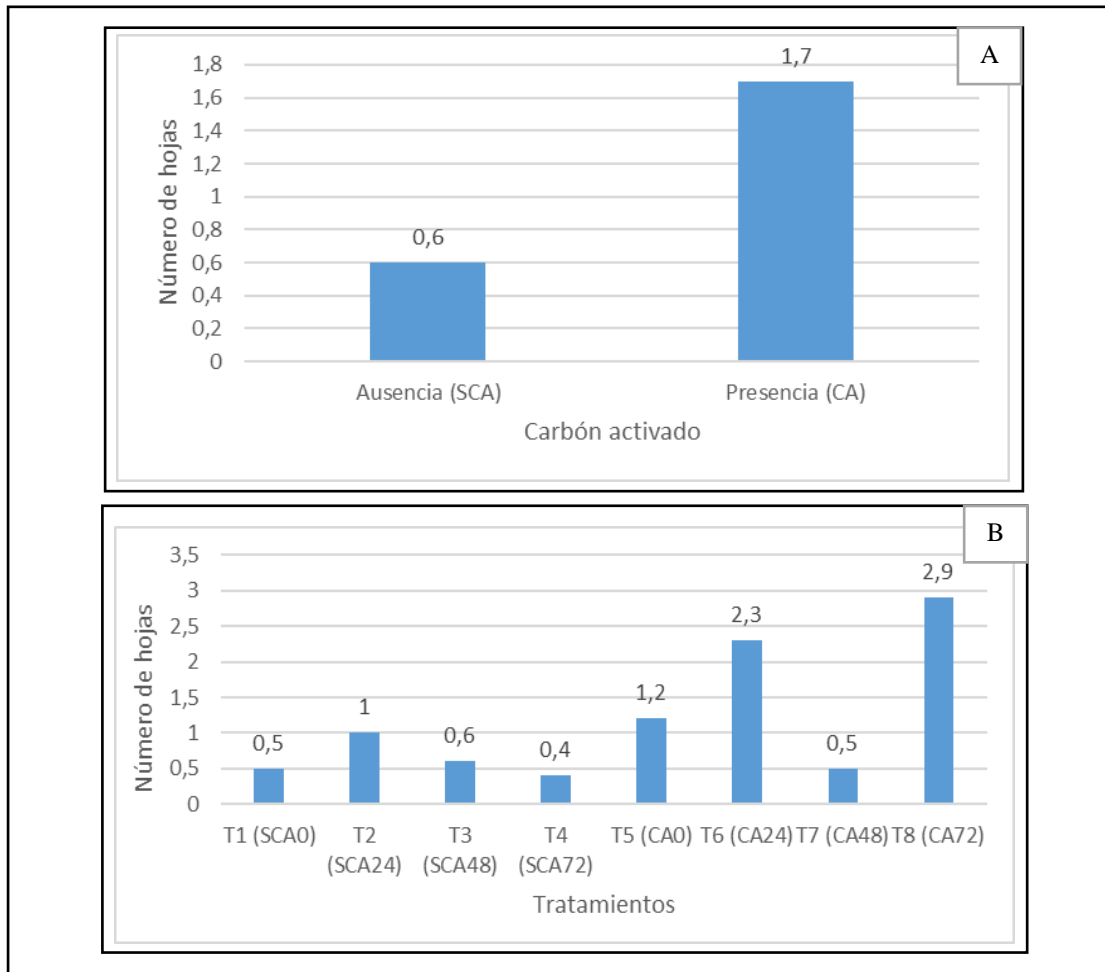


Figura 23. Medias para la variable número de hojas para el carbón activado (A) y tratamientos (B).

Elaborado por: El autor, 2020.

El análisis estadístico arrojó que la exposición a KNO_3 , no presentó diferencias significativas para las distintas horas de exposición (Tabla 7).

La adición de los 400 ppm de carbón activado en el medio de cultivo influyó sobre el desarrollo del número de hojas, ya que las semillas de *S. betaceum* que fueron sembradas en dicho medio presentaron una media de 1,7 hojas por vitroplanta, en comparación con las semillas que no fueron expuestas a carbón activado, con una media igual a 0,6 hojas por cada explante (Tabla 7, Figura 23a). La presencia del carbón activado en el medio de cultivo favorece el desarrollo

foliar (Pedroza, 2009); de igual manera Vaca et al. (2018), destacan el uso del carbón activado pues incrementó el número de hojas en *Citrus limon* (L).

El mejor tratamiento fue T8 (CA72), que arrojó una media de 2,9 hojas por cada explante (Tabla 7, Figuras 23b, 24 h), recalcando que dicho tratamiento fue expuesto a carbón activado en el medio de cultivo, así como a exposición al elemento osmoacondicionador. Cárdenas & Rojas (2003), mencionan que el uso de KNO_3 es un elemento promotor en la brotación de yemas, es decir, induce al desarrollo en sus meristemas, por lo cual, ayuda en la formación de hojas; los mismos autores señalan que al aplicar nitrato de potasio en *Tommy atkins* aumentó la densidad vegetativa en dicha especie; y, por su parte Gandini (2018), indica que la adición de nitrato de potasio mejoró el desarrollo de la biomasa en el cultivo de tomate.

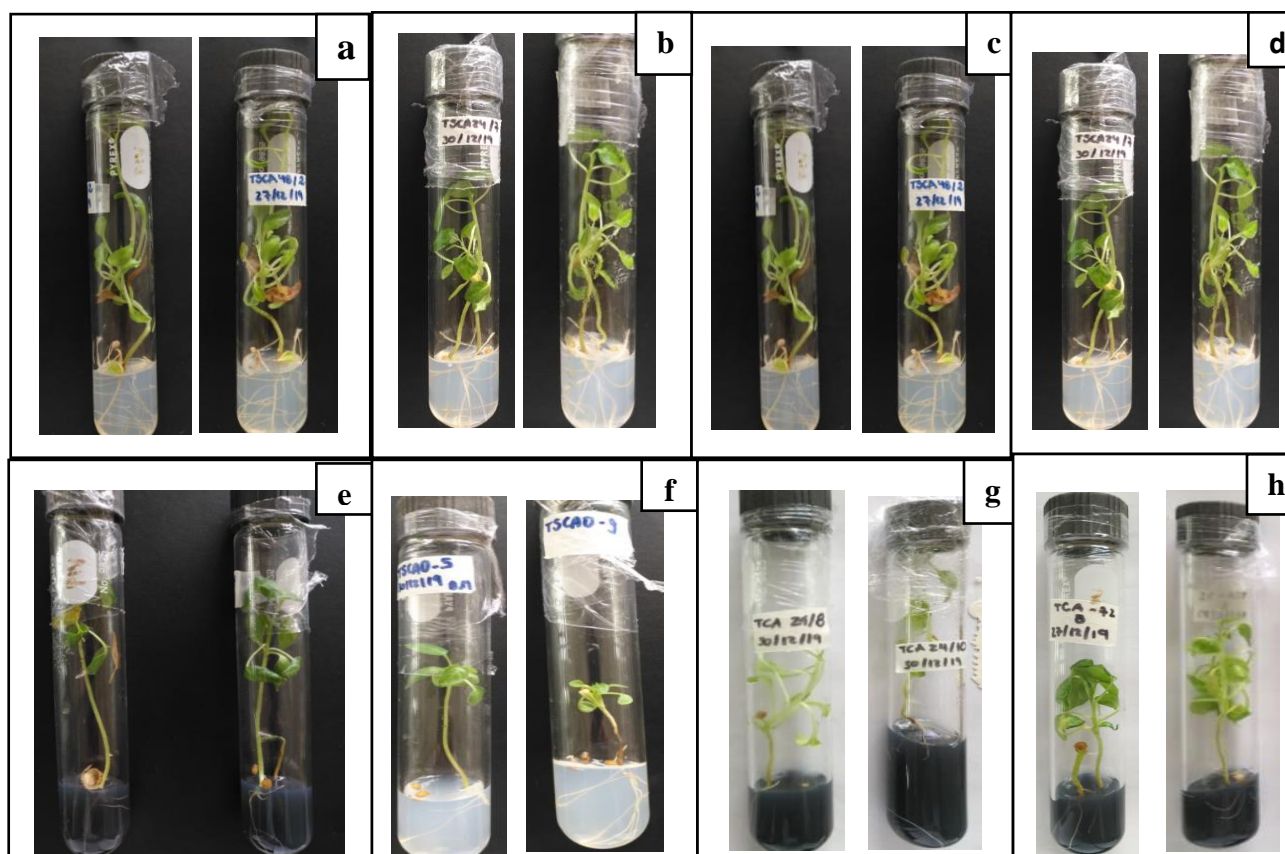


Figura 24. Siembras *in vitro* de *Solanum betaceum* (a) T3 (SCA48), (b) T2 (SCA 24), (c) T3 (SCA48), (d) T2 (SCA 24), (e) T7 (CA48), (f) T2 (SCA24), (g) T7 (CA48), (h) T8 (TCA72).

Elaborado por: El autor, 2020.

Conclusiones

- El mejor tratamiento físico *ex vitro* fue T3 (SEM48) con una mediana del 100 % y una media de 92 % de germinación, y un promedio de 28 días a la germinación, 2,6 cm de longitud del tallo, 5,7 cm de longitud de la raíz y 2,6 hojas por planta; la ausencia de escarificación manual (SEM), presentó una mediana del 100 % y una media de 67 % de germinación, y las mejores medianas para longitud del tallo, longitud de la raíz, número y color de hojas; respecto al factor horas frío, las 48 horas de exposición mostraron la mejor mediana con 100 % y una media de 78 % de germinación, 2,2 cm de longitud del tallo, 5 cm de longitud de raíz y 2,2 hojas por plántula.
- En el tratamiento físico *in vitro*, la inhibición por escarificación manual y la exposición a temperaturas bajas en las semillas presentó un 0 % de germinación.
- El no exponer a las semillas de *Solanum betaceum* a KNO_3 fue el mejor factor pregerminativo químico *ex vitro* con una mediana del 100 % de germinación y con una media para longitud del tallo de 2,2 cm y número de hojas por explante de 2,5; sin embargo; para una mejor formación radicular, 48 h de exposición a KNO_3 generaron la mayor longitud de raíz con 6,3 cm; el tratamiento T5 (RCA0) presentó una mediana del 100 % y una media de 88 % de germinación, el mejor color “verde hierba” con una mediana de 5 en la escala colorimétrica, un promedio de 2,5 cm para la longitud del tallo y 2,4 hojas por planta.
- En los tratamientos químicos *in vitro*, la presencia de carbón activado presentó los mejores resultados, con una mediana del 100 % y una media de 60 % de germinación, un promedio de 1,53 cm de longitud en el tallo, 1,54 cm de raíz y 1,7 hojas por vitroplanta; y el mejor tratamiento pregerminativo fue T8 (CA72) que alcanzó una media de 70 % y una mediana del 100 % de germinación, además presentó una media de 2,1 cm de longitud de tallo, 2 cm para la longitud de la raíz, así como un promedio de 2,9 hojas en *Solanum betaceum*.

Recomendaciones

- Evaluar mayor tiempo de exposición a horas frío (estratificación) a las semillas de interés, así como probar otros métodos de escarificación (química y mecánica), y exhaustivamente el KNO_3 , a distintas concentraciones, tiempos de exposición e interacciones, pues está reportado que es beneficioso para la germinación.
- Tomar en cuenta el almacenamiento de la semilla, pues su viabilidad se ve afectada en los procesos de germinación.

Bibliografía

- Abobkar, I., & Saad and Ahmed, M. (2012). Plant Tissue Culture Media. Obtenido de Recent Advances in Plant *in vitro* Culture: <https://www.intechopen.com/books/recent-advances-in-plant-in-vitro-culture/plant-tissue-culture-media>
- Abril, R., Ruíz, T., Alonso, J., & Cabrera, G. (2017). Germinación, diámetro de semilla y tratamientos pregerminativos en especies con diferentes finalidades de uso. *Agron. Mesoam.* 28(3), 703-717.
- Achupallas, R. (2019). Efecto del ácido giberélico y escarificación sobre la germinación de semillas y el crecimiento inicial en Chirimoya (*Annona cherimola* L.). UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA. FACULTAD AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES.
- Alfaro, P. (2015). MÉTODOS DE ESCARIFICACIÓN EN LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE KUDZÚ (*Pueraria phaseoloides*). UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MACHALA. UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS. ESCUELA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA.
- Alcantara, J., Acro, J., Alcántara, J., & Sánchez, R. (2019). Principales reguladores hormonales y sus interacciones en el crecimiento vegetal. *NOVA.* 2019; 17 (32), 109-129. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v17n32/1794-2470-nova-17-32-109.pdf>
- Alvarado, E. (1994). ESTUDIOS EN LA PROPAGACIÓN SEXUAL Y ASEXUAL DEL TOMATE DE ÁRBOL (*Cyphomandra betacea* Sendt.). Tesis de grado en Ingeniería Agronómica. Escuela Agrícola Panamericana. Zamorano - Honduras

- Arahana, V., Cabrera, A., & Torres, M. (2010). Propagación del tomate de árbol (*Solanum betaceum* (Cav.) Sendt) vía embriogénesis somática. *ACI Avances En Ciencias E Ingenierías*, 2(2), B16-B21.
- Balaguera, H., Álvarez, J., & Cárdenas, J. (2010). EFECTO DE LA ESTRATIFICACIÓN FRÍA Y LA COBERTURA PLÁSTICA EN SEMILLAS DE GULUPA (*Passiflora edulis* Sims.) PARA LA OBTENCIÓN DE PLÁNTULAS. *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 13 (2): 89-97, 93.
- Balocchi, O., López, I., & Lukaschewsky, J. (1997). CARACTERÍSTICAS FÍSICAS Y GERMINATIVAS DE LA SEMILLA DE ESPECIES PRATENSES NATIVAS Y NATURALIZADAS DEL DOMINIO HUMEDO DE CHILE. Obtenido de Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. Instituto de Producción Animal: <http://revistas.uach.cl/html/agrosur/v26n1/body/art02.htm>
- Barragán, J., Rocha, N., Montoya, J., Gallegos, J., Moreno, M., Sigala, J., . . . González, R. (2020). *In vitro* propagation of *Quercus sideroxyla* from mature acorns. *Agrociencia*, ISSN-e 1405-3195, Vol. 54, N°. 1, 129-145.
- Benítez, S., Lobo, M., Delgado, O., & Medina, C. (2013). Estudios de germinación y remoción de latencia en semillas de papayuelas *Vasconcellea Cundinamarcensis* y *Vasconcellea Goudotiana*. *Corpoica Cienc. Tecnol. Agropecu.* (2013) 14(2), 187-197.
- Benvenuti, S. (2016). Seed ecology of Mediterranean hind dune wildflowers. Obtenido de *Ecological Engineering*. Volume 91, Pages 282-293: <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.01.087>
- Bohs, L. (1994). NYBG Steere Herbarium. Obtenido de WFO Monographs Details. *Cyphomandra* (*Solanaceae*): <http://sweetgum.nybg.org/science/world-flora/monographs-details/?irn=21836>

- Bonnet, J., & Cárdenas, J. (2012). Manual para el cultivo de frutales en el trópico. Obtenido de Produmedios.
- Bonza, M., Pinzón, E., & Álvarez, J. (2016). Efecto del nitrato de potasio y la sacarosa sobre el rendimiento de plantas de cebolla (*Allium cepa* L.). Obtenido de Revista Temas Agrarios. Vol. 21. Num. 2: <https://revistas.unicordoba.edu.co/index.php/temasagrarios/article/view/900>
- Borrero, E. (2007). Protocolo para la regeneración de plántulas a partir de explantes de hojas de cinco variedades ecuatorianas de tomate de árbol (*Solanum betaceum*). Universidad San Francisco de Quito.
- Bradbeer, J. (2013). Seed Viability and Vigour. SpringerLink. Tertiary Level Biology book series (TLB). Chapter Eighth. Seed Dormancy and Germination. Seed Viability and Vigour, 95-109.
- Calva, G., & Pérez, J. (2005). CULTIVO DE CÉLULAS Y TEJIDOS VEGETALES: FUENTE DE ALIMENTOS PARA EL FUTURO. Revista Digital Universitaria UNAM. Volumen 6 Número 11, 1-16.
- Cárdenas, K., & Rojas, E. (2003). Efecto del paclobutrazol y los nitratos de potasio y calcio sobre el desarrollo del mango "*Tommy atkins*". *Bioagro*, vol. 15, núm. 2., 83-90.
- Caroca, R., Zapata, N., & Vargas, M. (2016). EFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE LA GERMINACIÓN DE CUATRO GENOTIPOS DE MANÍ (*Arachis hypogaea* L.). Obtenido de Chil. j. agric. anim. sci. vol.32 no.2 Chillán: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0719-38902016000200002

- Castillo, L., Maldonado, J., Alonso, Á., & Carranza, C. (2019). Efecto de 6-bencilaminopurina y nitrato de potasio sobre la micropropagación *in vitro* de *Laelia anceps* subsp. *anceps* (*Orchidaceae*). *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*. Volumen 22. N°1, 32-39.
- Castro, J. (2014). Fenología y crecimiento del tomate de árbol (*Solanum betaceum* (Cav.) Sendt), cultivado con coberturas plásticas en el suelo. Tesis de Maestría en Ciencias Agrícolas. San Juan de Pasto: Universidad de Nariño.
- Chamorro, A., Martínez, S., Fernández, J., & Mosquera, T. (2007). Evaluación de diferentes concentraciones de algunos reguladores de crecimiento en la multiplicación y enraizamiento *in vitro* de *Limonium var. Misty blue*. Obtenido de *Agronomía Colombiana* 25(1), 47-53:
<https://revistas.unal.edu.co/index.php/agrocol/article/view/14396/15213>
- De la Cuadra, C. (1993). Germinación, Latencia y dormición de las semillas. Instituto Nacional de Reforma y Desarrollo Agrario. España, 2-24.
- Diro, M., van Staden, J., & Bornman, C. (2004). Propagation of Ensete *in vitro*: a review. *South African Journal of Botany*, 70(4), 497-501.
- Doria, J. (2010). *A general information on seeds: Its production, preservation and storage*. Obtenido de *cultrop* v.31 n.1 La Habana:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362010000100011
- Drew, M. (1975). COMPARACIÓN DE LOS EFECTOS DE UN SUMINISTRO LOCALIZADO DE FOSFATO, NITRATO, AMONIO Y POTASIO SOBRE EL CRECIMIENTO DEL SISTEMA RAÍZ SEMINAL Y EL BOTE, EN CEBADA. *New Phytologist*. Volumen 75 , Número 3, 479-490.

- Estévez, M. (2019). Evaluación de diferentes medios de cultivo para la germinación *in vitro* de semillas cultivares de tomate de árbol (*Solanum betaceum*). Tesis de Grado. Universidad Central del Ecuador. Facultad de Ciencias Agrícolas. Carrera de Ingeniería Agronómica.
- Feicán, C. (Agosto de 2016). INIAP. Obtenido de DESCRIPCIÓN AGRONÓMICA DEL CULTIVO DE TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betaceum* Cav.): https://www.researchgate.net/publication/312938646_DESCRIPCION_AGRONOMICA_DEL_CULTIVO_DE_TOMATE_DE_ARBOL_Solanum_betaceum_Cav
- Figueroa, J., & Jaksic, F. (Marzo de 2004). Latencia y banco de semillas en plantas de la región mediterránea de Chile. Obtenido de Rev. chil. hist. nat. v.77 n.1 Santiago: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-078X2004000100016
- Fischer, G., Torres, F., & Torres, J. (1997). Efecto de la temperatura del suelo sobre la planta. Crecimiento y desarrollo. Obtenido de Revista Comalfi, Volumen XXIV, Número 3. Pág: 78-92: https://www.researchgate.net/publication/257069715_Efecto_de_la_temperatura_del_suelo_sobre_la_planta_1_Crecimiento_y_desarrollo
- Flores, E., Caceres, W., & Aguire, L. (2020). Efecto de la escarificación en la germinación de semillas de soya forrajera perenne (*Neonotonia wightii*). Rev Inv Vet Perú 2020; 31(3).
- Gandini, R. (2018). Efecto de KNO₃ como tratamiento de semilla y fertilización nitrogenada en crecimiento vegetativo de tomate. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
- George, E., & Hall, M. (2007, Octubre). The Components of Plant Tissue Culture Media I: Macro- and Micro-Nutrients. Retrieved from

https://www.researchgate.net/publication/226836015_The_Components_of_Plant_Tissue_Culture_Media_I_Macro-_and_Micro-Nutrients

González, L., Pita, B., Pinzón, E., Cely, G., & Serrano, P. (2018). Efecto de tratamientos pregerminativos en semillas de *Dianthus barbatus* L. cv. 'Purple' bajo condiciones controladas. REVISTA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS. Volumen 35(1):, 58-68.

Hanco, E., & Sucari, B. (2017). PRECOCIDAD Y CAPACIDAD GERMINATIVA DE LAS OCHO VARIEDADES DE QUINUA (*Chenopodium quinoa* willd.) UTILIZADOS PARA EL MEJORAMIENTO GENÉTICO EN EL CIP CAMACANI DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO. REVISTA DE INVESTIGACIONES DE LA ESCUELA DE POSGRADO. UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO. Vol. 6, No.1, 28-40.

Hernández, D., Giraldo, L., & Moreno, J. (2019). Interaction between Hydrocarbons C6 and Modified Activated Carbons: Correlation between Adsorption Isotherms and Immersion Enthalpies. ACS Omega. 2019 Nov 26; 4(22), 19595–19604.

Hernández, M., Medina, C., Cartagena, J., Delgado, O., & Lobo, M. (2009). Comportamiento de la germinación y categorización de la latencia en semillas de mortiño (*Vaccinium meridionale* Swartz). Agron. Colom. 27 (1), 15-23.

Hernández, P. (2006). Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia. Obtenido de Regeneración biológica. Secretos de la naturaleza: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892006000300004

Jiménez, V., & Guevara, E. (1996). PROPAGACION *in vitro* DE *Phalaenopsis* (ORCHIDACEAE) MEDIANTE EL CULTIVO DE SECCIONES DE EJES FLORALES DESPUES DE LA SENESCENCIA DE LAS FLORES. *Agronomía Costarricense* 20(1): 75-79. 1996, 75-79.

- Kaye, T., & Kuykendall, K. (2001). Effects of scarification and cold stratification on germination of *Lupinus sulphureus* ssp. *kincaidii*. *Seed Sci. & Technol.*, 29, 663-668.
- Khurana, E., & Singh, J. (2001). Ecology of seed and seedling growth for conservation and restoration of tropical dry forest: A review. *Environmental Conservation* 28(01), 39-52.
- Laurentín, H., & Andrade, S. (2015). EFECTO DEL NITRATO DE POTASIO SOBRE LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE TRES CULTIVARES DE AJÍ DULCE (*Capsicum chinense* Jacq.) Obtenido de https://www.researchgate.net/publication/283902229_EFECTO_DEL_NITRATO_DE_POTASIO_SOBRE_LA_GERMINACION_DE_SEMILLAS_DE_TRES_CULTIVARES_DE_AJI_DULCE_Capsicum_chinense_Jacq_Effect_of_potassium_nitrate_on_seed_germination_of_three_sweet_pepper_Capsicum_chi
- Leiva, O. (1977). Herencia y mejoramiento de la precocidad del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en el trópico. Obtenido de Tesis Mag. Sc. Bogotá, Universidad Nacional de Colombia-Instituto Colombiano Agropecuario: <http://hdl.handle.net/20.500.12324/32961>
- López-Escamilla, A., López-Herrera, M., & Loaiza, C. (Agosto de 2016). Efecto de diferentes agentes gelificantes en la germinación y desarrollo *in vitro* de plántulas de *Echinocactus platyacanthus* link et otto (*cactaceae*). Obtenido de Polibotánica no.42 México: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-27682016000200153
- Maldonado, F. (2015). Evaluación de la germinación de semillas de *Vachellia macracantha* usando métodos de escarificación. Universidad San Francisco de Quito. Colegio de Ciencias e Ingeniería.

- Manotoa, S. (2012). Escarificación mecánica y química como tratamientos pregerminativos en semillas de olivo (*Olea europea*). Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ingeniería Agronómica.
- Matilla, Á. (2008). *Desarrollo y germinación de las semillas*. Obtenido de Fundamentos de Fisiología Vegetal (pp.537-558): https://www.researchgate.net/publication/271512205_Desarrollo_y_germinacion_de_las_semillas
- Martínez, J., Salinas, L., & Corradini, F. (2011). NUTRICIÓN Y FERTILIDAD EN TOMATE AL AIRE LIBRE.CAPÍTULO 2. En A. Torres, Manual del Cultivo de Tomate de árbol al aire libre. INIA.
- Medina, B., & Suancha, S. (2013). EFECTO DEL ACONDICIONAMIENTO OSMÓTICO EN SEMILLAS DE TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.) VARIEDAD SANTA CLARA. Conexión Agropecuaria JDC - Vol 3 No. 2 , 11-17.
- Meneses, J., & Masache, E. (2018). EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA FOTOSINTÉTICA EN EL CULTIVO *IN VITRO* de *Brassica oleracea* var. Italica. Tesis de Grado. Obtenido de Repositorio Institucional de la Universidad Politécnica Salesiana: <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/15692>
- Meza, N., & Manzano, J. (2007). Características morfológicas de la semilla, procesos de germinación y emergencia del tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* Cav. Sendth). Rev. Fav. Agron. (LUZ). 24 Supl. 1: 279.
- Meza, N., & Manzano, J. (2009). Revista UDO., 9.

- Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. (2015). Sistema de Información Pública Agropecuaria. Retrieved from Producción histórica del tomate de árbol a nivel nacional.: sinagap.agricultura.gob: <http://sinagap.agricultura.gob.ec/>
- Moreno, B., & Jiménez, S. (2013). Efecto del acondicionamiento osmótico en semillas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) variedad Santa Clara. Conexión Agropecuaria. 3(2), 11-17.
- Moreno, C., Molina, J., Ortiz, J., Peñafiel, C., & Moreno, R. (2020). Cadena de valor en la red de tomate de árbol (*Solanum betaceum*) en Ecuador. Agron. Mesoam vol.31 n.1 San Pedro, 13-29.
- Msogoya, T., Maerere, A., Nzogela, Y., & Kusolwa, P. (2008). Changes in acidity of plant growth media during heat sterilisation. Obtenido de Repositorio Dspace/Manakin: <http://www.suaire.suanet.ac.tz:8080/xmlui/handle/123456789/1630>
- Murillo, P., Hoyos, R., & Paúl, C. (Abril de 2017). Organogénesis *in-vitro* using three tissues types of tree tomato [*Solanum betaceum* (Cav.)]. Obtenido de Agronomía Colombiana. vol.35 no.1 Bogotá: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-99652017000100005&lng=en&nrm=iso&tlng=en
- Niño, D., & Cotrino, E. (2015). ANÁLISIS DEL COMPORTAMIENTO ECOFISIOLÓGICO Y LA GERMINACIÓN EN TOMATE DE ÁRBOL *Solanum betaceum*, MATERIAL NARANJA COMÚN, EN EL MUNICIPIO DE PASCA CUNDINAMARCA. Tesis de grado. UNIVERSIDAD DE CUNDINAMARCA, FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS.
- Ogbuehi, H., Madukwe, D., & Ashilonu, P. (2013). ASSESSMENT OF HYDRO PRIMING OF SEEDS ON PERFORMANCE OF MORPHOLOGICAL INDICES OF

BAMBARA GROUNDNUT (*VIGNA SUBTERRENEA* LINN.) LANDRACE.
Obtenido de Global Journal of Biology, Agriculture & Health Sciences:
<https://www.longdom.org/abstract/assessment-of-hydro-priming-of-seeds-on-performance-of-morphological-indices-of-bambara-groundnut-vigna-subterrenea-linn-1730.html>

Orquera, G. (2013). ESTABLECIMIENTO DE UN PROTOCOLO PARA EL CULTIVO *IN VITRO* DE CHUQUIRAGUA (*Chuquiraga jussieu*) A PARTIR DE YEMAS APICALES Y AXILARES. TESIS DE GRADO. Sangolqui: UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS - ESPE.

Padilla, V. (2013). EVALUACIÓN DE SUSTRATOS PARA LA OBTENCIÓN DE PLANTAS DE TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum Betaceum*) CON LA UTILIZACIÓN DE BANDEJAS. Tesis de Ingeniería. Universidad Técnica de Ambato. Carrera de Ingeniería Agronómica.

Pedroza, J. (2009). Efecto del carbón activado, ácido indolacético (AIA) y bencil amino purina (BAP) en el desarrollo de protocormos de *Epidendrum elongatum* Jacq bajo condiciones *in vitro*. Obtenido de <https://revistas.unal.edu.co/index.php/biotecnologia/article/download/10318/38375>

Pedroza, J., Serrato, L., & Castaño, M. (2010). Efecto del carbón activado y ácido indol acético en el desarrollo de protocormos de *Masdevallia coccinea* Linden ex Lindl. y *Maxillaria nutans* Lindl. *in vitro*. Rev. Colomb. Biotecnol. Vol. XII No. 2, 86-102

Pelacho, A., Martín-Closas, L., & Safelui, J. (2006). UNIVERSITAT DE LLEIDA - MEDIOS. Obtenido de Convocatoria de "Innovación Docent": <http://cv.udl.cat/cursos/76304/t5/t5.htm>

- Pérez, L., Rodríguez, N., Vargas, O., & Melgarejo, L. (2014, Julio). GREUNAL. Semillas de plantas de Páramo. Retrieved from Germinación y dormancia de semillas. Bases conceptuales, métodos de colecta, almacenamiento y manejo en laboratorio.: https://www.researchgate.net/publication/324808113_Germinacion_y_dormancia_de_semillas
- Pilco, J. (2009). Evaluación de dos formulaciones químicas a base de N-P-K para el crecimiento y desarrollo del Tomate de árbol (*Solanum betaceum*). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Escuela de Ingeniería Agronómica.
- Pliego, L., López, J., & Aragón, E. (2013). Características físicas, nutricionales y capacidad germinativa de frijol criollo bajo estrés hídrico. En R. M. Texcoco. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342013001000011#c1.
- Pinterest. (2020, Septiembre). *Pantone: Colours | Abrams Appleseed*. Retrieved from Color Psychology. Green: <https://www.pinterest.cl/pin/558094578828916789/?d=t&mt=signup>
- Posada, F., Pena, J., & Ulrichs, C. (2011). SCielo. Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica. Obtenido de CRECIMIENTO Y EFICIENCIA FOTOQUÍMICA DEL FOTOSISTEMA II EN PLANTAS DE FRESA (*Fragaria* sp.) AFECTADAS POR LA CALIDAD DE LA LUZ: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0123-42262011000200005&lng=en&nrm=iso&tlng=es
- Quisbert, J. (2019). Efectos de tres concentraciones de carbón activo y diferentes fuentes de carbono, en multiplicación de vitroplantas de papa imilla negra (*Solanum tuberosum* L

- ssp. *andigena*). Tesis de Grado en Ingeniería Agronómica. Obtenido de Universidad Mayor de San Andrés.: <http://repositorio.umsa.bo/xmlui/handle/123456789/23462>
- Rayas, A., López, J., Medero, V., Basail, M., Santos, A., & Martínez, M. (2020). CONSERVACIÓN *IN VITRO* DE CULTIVARES DE ÑAME (*Dioscorea alata* L.) BAJO CONDICIONES DE CRECIMIENTO MÍNIMO. *Rev. Agricultura Tropical* Vol. 6 No. 1, 33-40.
- Rahman, S., ISLAM, M., Kumar, P., & Begum, F. (2005). *In vitro* Propagation of *Oncidium taka*. *Biotechnology*. Volume: 4. Issue: 3225-229, 225-229 DOI: 10.3923/biotech.2005.225.229.
- Revelo, J., Pérez, E., & Maila, M. (2004). Manual de capacitación del cultivo ecológico de tomate de árbol en Ecuador. INIAP.
- Roca, W., & Mogrinski, L. (1993). Cultivo de tejidos en la Agricultura. Fundamentos y Aplicaciones. CIAT. Colombia.
- Rodríguez, M., Tampe, J., Hormazábal, N., & Araneda, X. (2017). Efecto de la escarificación y estratificación sobre la germinación *in vitro* de *Aristotelia chilensis* (Molina) Stuntz. *Gayana Bot.* 74(2), 282-287.
- Rodríguez, J. (1998). EFECTO DEL NITRÓGENO, FÓSFORO Y POTASIO EN EL CRECIMIENTO Y PRODUCCIÓN DE PLÁNTULAS DE TOMATE (*Lycopersicon esculentum* Mill) VAR *FLORADAE*. *Universidad Autónoma de Nuevo León. Tesis previo a obtener el grado de Maestro en Ciencias.*
- Rodriguez, M., & Florez, V. (2004). Elementos Esenciales y Beneficiosos. *FERTI-RIEGO*, *Universidad de Almeria. Departamento de Agronomía.*

- Rodríguez, r., & Orellana, C. (1990). MEJORAMIENTO DEL RENDIMIENTO Y LA PRECOCIDAD DEL FRIJOL (*Phaseolus vulgaris* L.). AGRONOMÍA MESOAMERICANA 1, 15-19.
- Sánchez, J., Mejía, J., Hernández, A., Peña, A., & Carballo, A. (2007). Acondicionamiento osmótico de semillas de tomate de cáscaras. Agricultura técnica en México. vol.33 no.2, 115-123.
- Sánchez, L. (2019). Evaluación de diferentes medios de cultivo para la introducción *in vitro* de semillas segregantes de tomate de árbol. Trabajo de Grado. Quito: UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR, FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS, CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA.
- Santacruz, F., Castañeda, J., Gaspar, A., Núñez, N., & Mora, A. (2014). Rompimiento de la dormancia en semillas y propagación *in vitro* de *Cordia elaeagnoides* A. DC. Rev. mex. de cienc. forestales vol.5 no.25, 84-97.
- Sathyanarayana, B., & Varghese, D. (2007). PLANT TISSUE CULTURE. Obtenido de Chapter IV:
- Sharry, S., Adema, M., & Abedeni, W. (2015). Plantas de Probeta. Manual para la propagación de plantas por cultivo de tejidos *in vitro*. La Plata: Edulp (Editorial de la Universidad de la Plata).
- Singh, P. (2020). Effect of potassium nitrate (KNO₃) and gibberellic acid (GA₃) on root and shoot growth of aonla (*Emblica officinalis* L.). Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 9(1), 584-586.
- Singh, R., Singh, R., Borthakur, A., Srivastava, P., Srivastava, N., Tywari, D., & Kumar, P. (2016). Effect of nanoscale TiO₂-activated carbon composite on *Solanum lycopersicum*

- (L.) and *Vigna radiata* (L.) seeds germination. Obtenido de Energ. Ecol. Environ. (2016) 1(3):131–140:
https://www.researchgate.net/publication/294421855_Effect_of_nanoscale_TiO2_activated_carbon_composite_on_Solanum_lycopersicum_L_and_Vigna_radiata_L_seeds_germination
- Tamba, M. (2013). Selección de materias promisoras de tomate de árbol (*Solanum betaceum*) con resistencia a Antracnosis, productividad y calidad del fruto. INIAP - Estación Experimental Santa Catalina, 2-20.
- Tello, V. (2016). Despliegue diferencial de genes candidatos del proceso de embriogénesis somática en tomate de árbol (*Solanum betaceum*). Tesis de grado. QUITO: Universidad Central del Ecuador - Facultad de Ciencias Agrícolas.
- Toapanta, A. (2018). “Caracterización morfológica y evaluación preliminar de tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav) a *Leptoglossus zonatus* (Hemiptera: Coreidae)”. Tesis de Ingeniería. Universidad Central del Ecuador. Carrera de Ingeniería Agronómica.
- Torres, A. (Septiembre de 2019). Revistas UTPC. Obtenido de Latencia y germinación de semillas de tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.) y lulo (*Solanum quitoense* Lam.) : https://revistas.uptc.edu.co/index.php/ciencias_hortcolas/article/view/10130
- Tropicos.org. (17 de Agosto de 2020). Missouri Botanical Garden. Obtenido de <http://www.tropicos.org/Name/29608823>
- Vaca, I., Marulanda, M., Verdesoto, J., Núñez, A., Acurio, R., & Chiluisa, V. (2018). Efecto del carbón activado en la germinación y brotación *in vitro* de *Citrus limon* (L.) y su dinámica de crecimiento. Bionatura, <http://revistabionatura.com/2018.03.03.5.html>

- Vaca, I., Masache, E., Meneses, J., & Ramirez, J. (2019). *In vitro* adaptation of *Cyphomandra betacea*: Effect of inorganic salts and nitrogen Adaptación *in vitro* de *Cyphomandra betacea*: efecto de sales inorgánicas y nitrógeno. Retrieved from <http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/17843/1/Citis%205.pdf>
- Varela, S., & Arana, V. (2011). Latencia y germinación de semillas. Tratamientos pregerminativos. Unidad de Genética Ecológica y Mejoramiento Forestal, INTA EEA Bariloche. Cuadernillo N° 3, 1-10.
- Viera, W., Brito, & Beatriz. (2019). Fortalecimiento de la investigación para mejorar la productividad y calidad de la naranjilla y tomate de árbol, en el Ecuador. INIAP, 1-35.
- Walck, J., Hidayati, S., Dixon, K., Thompsons, K., & Poschlod, P. (2011). Climate change and plant regeneration from seed. *Global Change Biology*. Volume17, Issue6, 2145-2161.
- Zavala, F., Maldonado, R., Sandoval, M., Álvarez, M., Colinas, M., & Ramírez, P. (2011). CAMBIOS MORFOLÓGICOS Y FISIOLÓGICOS EN HOJAS DE FRIJOLTOLERANTE Y SUSCEPTIBLE A DEFICIENCIA DE HIERRO. *TERRA LATINOAMERICANA VOLUMEN 29 NÚMERO 3*, 267-276.
- Zheng, Y., Drechsler, N., Rausch, C., & Kunze, R. (2016). El transportador de nitrato de *Arabidopsis* NPF7.3 / NRT1.5 está involucrado en el desarrollo de la raíz lateral bajo privación de potasio. *Señalización y comportamiento de plantas*. Vol 11 (5), 2832-2847.
- Zhang, R., Ren, Z., Sun, J., Tang, W., Ning, D., & Qian, Y. (2016). Method for monitoring the cotton plant vigor based on the WSN technology. *Computers and Electronics in Agriculture*. Volume 133, February 2017, 68-79

ANEXOS

Anexo 1. Protocolo de desinfección de *Solanum betaceum*.



Elaborado por: El autor, 2020.

Anexo 2. Proceso de escarificación manual a semillas de *Solanum betaceum*.



Elaborado por: El autor, 2020.