



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO



**DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA
COORDINACIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN HORTICULTURA**

**TOLERANCIA DE LOS GRANOS DE POLEN DE TOMATE
(*Solanum lycopersicum* L.) A TEMPERATURAS EXTREMAS**

TESIS

Que como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

Presenta:

LESLY BELÉN VALENCIA GÁMEZ

**Bajo la dirección de
Dr. Juan Enrique Rodríguez Pérez**



Chapingo, Estado de México, mayo de 2026

**TOLERANCIA DE LOS GRANOS DE POLEN DE
TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.) A TEMPERATURAS EXTREMAS**

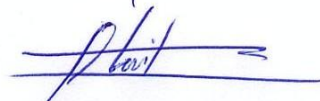
Tesis realizada por la C. Lesly Belén Valencia Gámez bajo la supervisión del comité asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

DIRECTOR:


Dr. Juan Enrique Rodríguez Pérez

ASESOR:


Dr. Edilberto Avitia García

ASESOR:


Ph. D. Jaime Sahagún Castellanos

ASESOR:


Dra. Gabriela Ramírez Ojeda

Chapingo, Estado de México, mayo 2026

TOLERANCIA DE LOS GRANOS DE POLEN DE TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.) A TEMPERATURAS EXTREMAS

ÍNDICE

1	INTRODUCCIÓN.....	1
1.1	OBJETIVO.....	2
1.2	HIPÓTESIS	2
2	REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1	Reproducción	3
2.2	Estrés térmico por temperaturas extremas	4
2.3	Estrés térmico por temperaturas altas	5
2.4	Estrés térmico causado por frío	7
2.5	Métodos de evaluación del polen (<i>in vitro</i> e <i>in vivo</i>)	8
2.6	Importancia para la seguridad alimentaria	9
3	MATERIALES Y MÉTODOS.....	10
3.1	Ubicación.....	10
3.2	Genotipos	11
3.3	Establecimiento del cultivo.....	11
3.4	Obtención de granos de polen	11
3.5	Temperaturas ensayadas tiempos de exposición	11
3.6	Experimento 1. Germinación de polen en condiciones <i>in vitro</i>	11
3.6.1	Manejo experimental	12
3.6.2	Caracteres evaluados	12
3.7	Experimento 2. Germinación y viabilidad de granos de polen <i>in vivo</i>	12
3.7.1	Porcentaje de germinación y supervivencia de granos de polen.....	12
3.7.2	Manejo experimental	13
3.7.3	Caracteres evaluados.....	13
3.8	Prueba de viabilidad	13
3.8.1	Manejo experimental	14

3.8.2	Caracteres evaluados	14
3.9	Análisis estadístico	14
4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	15
4.1	Experimento 1. Germinación de polen en condiciones <i>in vitro</i>	15
4.1.1	Efecto de la temperatura sobre la germinación del polen	16
4.1.2	Efecto del tiempo de exposición sobre la germinación del polen	17
4.2	Longitud de tubo polínico.....	20
4.2.1	Efecto de la temperatura sobre la longitud del tubo polínico	20
4.2.2	Efecto del tiempo de exposición sobre la longitud del tubo polínico.....	21
4.3	Experimento 2. Germinación y viabilidad de granos de polen <i>in vivo</i>	24
4.3.1	Germinación del grano de polen.....	24
4.3.2	Viabilidad del polen.....	28
4.3.3	Efecto de la temperatura sobre la viabilidad del polen	28
4.3.4	Efecto del tiempo de exposición sobre la viabilidad del polen.....	29
5	CONCLUSIONES	32
6	Literatura Citada	33
7	ANEXOS.....	36

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Resultados de las pruebas de Kruskal- Wallis aplicadas a los caracteres evaluados de las pruebas in vitro e in vivo en tomate.....	15
---	----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Porcentajes de germinación de polen de los seis genotipos de tomate expuestos a temperaturas de A) 5 °C, B) 25 °C y C) 40 °C durante 6, 12 y 24 h.	16
Figura 2. Efecto del tiempo sobre la germinación del polen de los seis genotipos de tomate expuestos a 5, 25 y 40 °C: A) 6 h; B) 12 h; C) 24 h.....	18
Figura 3. Porcentaje de germinación relativo (PGER) de seis genotipos de tomate evaluados bajo distintos tratamientos térmicos y tiempos de exposición; cifras con la misma letra no difieren en forma significativa ($\alpha \leq 0.05$).....	19
Figura 4. Crecimiento del tubo polínico (LTP) de los seis genotipos de tomate expuestos A) 5 °C; B) 25 °C; C) 40 °C durante 6, 12 y 24 h.....	21
Figura 5. Efecto del tiempo sobre la longitud del tubo polínico de los seis genotipos de tomate expuestos a 5, 25 y 40 °C: A) 6 h; B) 12 h; C) 24 h.....	22
Figura 6. Efecto de la temperatura y el tiempo de exposición sobre la longitud del tubo polínico (LTP) en diferentes genotipos de tomate; cifras con la misma letra no difieren en forma significativa ($\alpha \leq 0.05$).	23
Figura 7. Porcentaje de germinación de los granos de polen (PGP) de los seis genotipos de tomate expuestos a: A) 5 °C; B) 25 °C; C) 40 °C durante 24, 48 y 72 h.	25
Figura 8. Porcentajes de germinación de polen (PGP) de los seis genotipos de tomate expuestos a temperaturas de 5, 25 y 40 °C: A) 24 h, B) 48 h y C) 72h.	26
Figura 9. Efecto de la temperatura y el tiempo de exposición sobre germinación del grano de polen (PGP) de tomate en cultivo in vivo, en diferentes genotipos; cifras con la misma letra no difieren en forma significativa ($\alpha \leq 0.05$).	27
Figura 10. Porcentaje de viabilidad de los granos de polen de tomate expuestos durante 48 h a 5, 25 y 40 °C.....	28
Figura 11. Efecto de la temperatura sobre la viabilidad del grano de polen de tomate (PGP), en diferentes genotipos; cifras con la misma letra no difieren en forma significativa ($\alpha \leq 0.05$).....	29

ÍNDICE DE ANEXOS

Cuadro 1A. Comparación de medias de rangos del porcentaje de germinación del polen de tomate (PGER) expuesto a temperaturas de 5, 25 y 40 °C durante 6, 12 y 24 h, en cultivo <i>in vitro</i>	36
Cuadro 2A. Comparación de medias de rangos de la longitud del tubo polínico (LTP) de los granos de polen de tomate expuesto a temperaturas de 5, 25 y 40 °C durante 6, 12 y 24 h, en cultivo <i>in vitro</i>	37
Cuadro 3A. Comparación de medias de rangos para el porcentaje de germinación de polen (PGP) de tomate expuesto a temperaturas de 5, 25 y 40 °C durante 6, 12 y 24 h, en cultivo <i>in vivo</i>	38
Cuadro 4A. Comparación de medias del porcentaje de viabilidad (PVI) de los granos de polen de tomate expuesto a temperaturas de 5, 25 y 40 °C durante 48 h, en cultivo <i>in vitro</i>	39

DEDICATORIA

A mis padres **Gildardo Valencia Rodríguez** y **Beatriz Gámez Ortega**, por ser mis mayores fans, por ser mi apoyo y guía en todo momento, sobre todo por nunca perder la fe en mí. Por su amor incondicional, su comprensión y palabras de aliento, cuando más las necesite.

A mi hermana **Yadira**, por regalarme dos motivos para seguir adelante, por sus palabras de apoyo, por los momentos bonitos que pasamos que me arreglan el corazón.

A mi hermano **Bruno**, por apoyarme siempre, por darme ánimos y sobre todo por su cariño y admiración.

A mis sobrinas **Allison** y **Ailani**, por recordarle a mi niña interior lo bonito que es la vida y que se pueden tener sueños que se convierten en realidad. Por su amor sincero.

A mis mejores amigas **Natalia**, **Valeria** y **Jackie**, por siempre darme ánimo, por su apoyo en las buenas y en las malas, por ser ese botón de reinicio, cuando el ánimo se vuelve casi nulo.

A **Omar Hernández** y **Fernanda Avilés**, por ser esa segunda familia que la vida me regalo, por adoptarme y ser un apoyo en todo momento, por nunca decir que no sea cuál sea el plan, por estar y aguantarme siempre.

A los amigos que me dejó el posgrado, **Francisco Preciado**, **Alan Hernández**, **Marla Juquila**, **Fernando Cruz** y **Erika Cántora** con quien pasé esta etapa de la mejor manera y que demuestran las diferentes formas en las que se define una amistad.

A todas las personas que me acompañaron a lo largo de esta aventura, que me regalaron un consejo, palabra de aliento, risas, buenos y malos momentos, porque la vida se trata de eso de aprender de todo. Y por sobre todo a mí, por no rendirme a pesar de las dificultades que se presentan, por no quedarme en la conformidad y dar mi mejor versión cada día, por elegirme siempre y demostrarme que los sueños se cumplen cuando se trabaja en ello.

AGRADECIMIENTOS

A la **Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI)**, por el apoyo otorgado mediante la beca correspondiente para llevar a cabo mis estudios de maestría en ciencias.

A la **Universidad Autónoma Chapingo**, por brindarme las mejores herramientas a lo largo de este camino, por ser mi segunda casa y por darme la oportunidad de crecer, tanto profesional como personalmente, lo cual respalda este trabajo de investigación.

Al **Dr. Juan Enrique Rodríguez Pérez**, por todos estos años de apoyo y orientación a lo largo de mi estancia en la Universidad, por su tiempo y nivel de compromiso desde el inicio. Su carácter académico y humano fue fundamental para lograr los mejores resultados.

Al **Dr. Edilberto Avitia García**, por su tiempo y conocimientos en fisiología vegetal, parte muy importante para el desarrollo de este proyecto, por su disponibilidad en todo momento.

Al **Ph.D. Jaime Sahagún Castellanos**, por su disponibilidad, asesoría y apoyo durante todo el proceso de investigación.

A la **Dra. Gabriela Ramírez Ojeda**, por su apoyo y tiempo brindados a pesar de la distancia, por su recomendación al inicio de este proceso.

A **Jorge Luis Sánchez Galicia**, por su disponibilidad e importante apoyo durante el proceso experimental de la presente investigación.

DATOS BIOGRÁFICOS

Datos personales

Nombre	Lesly Belén Valencia Gámez
Fecha de nacimiento	24 de diciembre de 1995
Lugar de nacimiento	Villa de Tezontepec, Hidalgo
CURP	VAGL951224MHGLMS
Cédula Profesional	13911805



Desarrollo académico

Licenciatura	Licenciatura en Agronomía en Horticultura Protegida, Universidad Autónoma Chapingo (2015-2019)
--------------	---

TOLERANCIA DE LOS GRANOS DE POLEN DE TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.) A TEMPERATURAS EXTREMAS

RESUMEN GENERAL

El jitomate (*Solanum lycopersicum* L.) es sensible a temperaturas extremas, ya sea altas o bajas, situaciones cada vez más frecuentes en el ámbito productivo. El objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto de temperaturas extremas (5 y 40 °C) sobre la viabilidad, germinación y capacidad reproductiva de los granos de polen de genotipos de tomate. Se realizó un experimento con polen de flores en antesis de seis genotipos, el cual se expuso a 5, 25 y 40 °C, durante 6, 12 y 24 h. El polen, se colocó en medio de cultivo y se determinó: porcentajes de viabilidad (PV) y de germinación (PG) del polen y longitud del tubo polínico (LTP). En un segundo ensayo el polen se expuso a las mismas temperaturas durante 48 h, y se usó para polinizar flores previamente emasculadas. Los estigmas de estas flores se retiraron a las 24, 48 y 72 h después de la polinización y se colocaron en medios de fijación y tinción. Los estigmas fueron desecados en 3 secciones (distal, media y proximal), en las que se determinó: números de granos de polen en el estigma (NGPE) y número de tapones de calosa (NTC) en cada sección. Se usaron diseños experimentales completamente al azar y se realizó la prueba de Kruskal Wallis y la comparación de medias de rangos. En 5 °C, el PV se redujo y permitió la discriminación de genotipos tolerantes. PG y LTP disminuyeron en 5 y 40 °C, aunque LTP fue más sensible. Estos caracteres, junto con el NTC pueden ser indicadores confiables de la termotolerancia de granos de polen, ya que permitieron identificar tanto a genotipos tolerantes (RF1, RF12 y RF38), como a susceptibles (Macizo, 47/47 y RF41). Finalmente, en forma conjunta, estos caracteres pueden considerarse como indicadores confiables de la tolerancia de granos de polen a temperaturas extremas (5 °C y 40 °C).

Palabras Clave: Selección de genotipos, termotolerancia, viabilidad y germinación de polen, estrés abiótico, tubo polínico.

Tesis de Maestría en Ciencias en Horticultura, Universidad Autónoma Chapingo.

Autor: Lesly Belén Valencia Gámez

Director: Dr. Juan Enrique Rodríguez Pérez

TOLERANCE OF TOMATO POLLEN GRAINS (*Solanum lycopersicum* L.) TO EXTREME TEMPERATURES

ABSTRACT

Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) is sensitive to extreme temperatures, whether high or low, which are becoming increasingly common in agricultural production. The objective of this research was to evaluate the effect of extreme temperatures (5 and 40 °C) on the viability, germination, and reproductive capacity of pollen grains of tomato genotypes. We performed an experiment using pollen from flowers at anthesis of six genotypes, which was exposed to 5, 25, and 40 °C for 6, 12, and 24 hours. The pollen was placed in culture medium, to determine: pollen viability (PV) and germination (PG) percentages, and pollen tube length (PTL). In a second experiment, the pollen was exposed to the same temperatures for 48 h and used to pollinate previously emasculated flowers. The stigmas of these flowers were removed at 24, 48, and 72 h after pollination and placed in fixation and staining media. The stigmas were sectioned into three parts (distal, middle, and proximal), to determine: number of pollen grains on the stigma (NGPE) and number of callose plugs (NTC) in each section. Completely randomized experimental designs were used, and the Kruskal-Wallis test and mean ranks multiple comparisons were performed. At 5 °C, PV decreased, allowing for the identification of tolerant genotypes. PG and LTP decreased at 5 and 40 °C, although LTP was more sensitive. These traits, together with NTC, can serve as reliable indicators of pollen grain heat tolerance, as they enabled the identification of both tolerant genotypes (RF1, RF12, and RF38) and susceptible ones (Macizo, 47/47, and RF41). Finally, taken together, these traits can be considered reliable indicators of pollen grain tolerance to extreme temperatures (5 °C and 40 °C).

Keywords: Genotype selection, heat tolerance, pollen viability and germination, abiotic stress, pollen tube.

Thesis of Master in Science in Horticulture, Universidad Autónoma Chapingo.

Author: Lesly Belén Valencia Gámez

Advisor: Dr. Juan Enrique Rodríguez Pérez

1 INTRODUCCIÓN

El jitomate (*Solanum lycopersicum* L.) es la hortaliza más popular del mundo, debido a su amplia distribución geográfica y amplio consumo. (FAO, 2025). A nivel mundial, ocupa de los primeros lugares en producción y comercialización solo por debajo de cultivos como la papa lo que refleja su importancia económica y su amplia participación en la cultura gastronómica del mundo (Food Agriculture Organization [FAO], 2011). En el año 2024, México fue el séptimo productor y principal exportador mundial de jitomate con 1'870,163 toneladas y captación de 2,358 millones de dólares, por lo que se ubicó como el tercer producto agropecuario generador de divisas (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera [SIAP], 2025). La superficie nacional cosechada fue de 50,000 ha, con producción de 3, 724,000 toneladas y valor superior a 37,470 millones de pesos. Asimismo, el cultivo representó 48 % de la agricultura protegida nacional (16, 507 ha), lo que representó el 28 % de la producción nacional de hortalizas. (SIAP, 2025).

El cambio climático ha causado modificaciones significativas en los patrones de temperaturas en los diversos ambientes del país. Se ha observado que las temperaturas extremas ocurren con mayor frecuencia y se han elevado en más de 1.8 °C a partir del año 2023, lo que impacta especialmente en estructuras protegidas como mallas sombras, túneles e invernaderos donde las temperaturas pueden superar los 40 °C, lo que implica incrementos de hasta 7 °C con respecto al exterior, lo que genera mayor y más frecuente estrés de las plantas (DGCS- UNAM, 2025). Por otro lado, aunque con menor frecuencia, las bajas temperaturas serán un factor limitante para los cultivos, especialmente en condiciones de campo abierto (Hatfield & Prueger, 2015).

La temperatura constituye uno de los factores ambientales más determinantes en el crecimiento, desarrollo y rendimiento del jitomate (*Solanum lycopersicum* L.), debido a su influencia directa en procesos fisiológicos y reproductivos. A partir de 30-32 °C, se reduce la viabilidad y germinación del polen, y se limita el crecimiento del tubo polínico, por lo que la fecundación y el cuajado de frutos significativamente. Ante estas situaciones las plantas han desarrollado mecanismos diversos de termo tolerancia (Peet et al., 2003; Sato et al., 2002).

A nivel fisiológico, el estrés por calor inhibe la eficiencia fotosintética del fotosistema II, desestabiliza enzimas como la rubisco e induce la acumulación de especies reactivas de oxígeno (ROS), responsables de daño oxidativo en lípidos, proteínas y ácidos nucleicos. El resultado final es la reducción del rendimiento y la pérdida de la calidad del fruto (Wahid et al., 2007).

El jitomate tiene alta sensibilidad a temperaturas inferiores a 15 °C, las cuales afectan tanto el metabolismo como el desarrollo reproductivo. El estrés por frío reduce la tasa fotosintética, la síntesis de clorofila y la fluidez de las membranas celulares, lo que compromete gravemente la integridad estructural de los tejidos. Estas alteraciones fisiológicas retrasan el desarrollo floral y disminuyen la fertilidad del polen y el cuajado de frutos (Hedhly, 2011). Además, la exposición prolongada a temperaturas bajas puede inducir “chilling injury”, lo que genera desbalances metabólicos y acumulación de ROS, y hace más susceptible la planta a otros factores adversos como los patógenos.

El estrés por calor y por frío afectan en forma crítica la fase reproductiva del cultivo, particularmente la funcionalidad de los granos de polen, que se considera uno de los tejidos más sensibles al estrés térmico, lo que genera la necesidad de comprender los mecanismos de tolerancia térmica, alteraciones de los procesos de viabilidad, germinación y desarrollo del tubo polínico ante este factor abiótico adverso (Allen & Ort, 2001; Nelson, 2009).

1.1 OBJETIVO

Evaluar el efecto de temperaturas extremas sobre la viabilidad, germinación y capacidad reproductiva de los granos de polen en líneas de tomate, mediante pruebas de germinación y viabilidad *in vivo* e *in vitro*, con el fin de establecer una metodología de selección de genotipos tolerantes a estas condiciones.

1.2 HIPÓTESIS

A pesar de la alta susceptibilidad de los granos de polen a las temperaturas extremas, existe variación genética que permite la identificación de genotipos con mayor a estos factores abióticos les hace mantener su capacidad reproductiva; comportamiento que permite la evaluación rápida de estas tolerancias.

2 REVISIÓN DE LITERATURA

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) pertenece a la familia Solanaceae y al género *Solanum*, que integra especies de importancia agrícola como papa, chile y berenjena. Su centro de origen se ubica en la región andina de Sudamérica, mientras que su domesticación ocurrió en Mesoamérica, donde fue seleccionado por su tamaño, sabor y productividad. La diversidad genética de las poblaciones silvestres constituye una fuente valiosa para el mejoramiento, particularmente para caracteres asociados con tolerancia a estrés biótico y abiótico (Peralta et al., 2008).

2.1 Reproducción

La fase reproductiva del tomate puede describirse en cuatro etapas (Contreras-Magaña et al., 2013):

1. Transición del meristemo apical (20-25 días después de la siembra [DDT]). El primer evento crítico es la transición del meristemo apical de vegetativo a reproductivo; etapa altamente sensible a temperaturas altas, las cuales pueden interrumpir la señalización hormonal y genética encargada de inducir la floración y provocar el aborto floral prematuro.
2. Diferenciación basípeta de la inflorescencia: el primer primordio se diferencia en el ápice del racimo, seguido de los demás en dirección proximal. Esto genera una asincronía de desarrollo donde coexisten flores en distintas etapas simultáneamente.
3. Organogénesis floral centrípeta: desarrollo centrípeto de los verticilos, etapa crítica por su alta susceptibilidad térmica en etapas exactas para la formación del polen. Entre los días 22 y 27 DDT ocurre la diferenciación de los verticilos florales, al iniciar con el cáliz (22-24 DDT) como estructura protectora, seguido de la corola (23-25 DDT). El androceo se forma entre los días 24 y 26 DDT, cuando se desarrolla el cono de anteras responsable de la producción de polen, etapa altamente susceptible al estrés térmico. Las dimensiones finales y proporciones entre el cono estaminal y el pistilo se definen durante los días 24 al 27 DDT. Esta disrupción anatómica separa espacialmente el polen del estigma receptivo, impedimento físico para la autopolinización.

Debido a la asincronía en el desarrollo basípeta, un evento de estrés térmico transitorio solo afecta gravemente a las flores que atraviesan su etapa más vulnerable de desarrollo,

comprendida entre los días 24 y 26 DDT. Por el contrario, las flores en etapas morfológicas anteriores o posteriores pueden conservar su viabilidad dentro de la misma inflorescencia.

Posteriormente, el gineceo (25–27 DDT) se diferencia con la formación del ovario, estilo y estigma. En esta fase, el estigma adquiere su capacidad receptiva para la germinación del polen. Finalmente, el tubo polínico permite la doble fecundación, la cual origina el cigoto y el endospermo, esenciales para el desarrollo y calidad del fruto.

4. Antesis acrópeta: durante la maduración final del racimo y la elongación de los pedúnculos, el orden cronológico de la apertura floral (antesis) se invierte y adopta un patrón de la base al ápice, en el cual las flores basales completan su maduración.

Dentro del proceso anterior, específicamente en el punto tres ocurren la formación del embrión y del endospermo, que inicia cuando el polen hace contacto con las células receptoras del pistilo (polinización) que permiten su adhesión, hidratación, y germinación; así como el desarrollo del tubo polínico. En ese momento la célula reproductiva masculina dará lugar a los dos núcleos espermáticos que ingresan al saco embrionario a través de una de las sinérgidas (Dresselhaus et al., 2016). Uno de los núcleos espermáticos se fusiona con la oófita y da origen al cigoto que producirá el embrión. El segundo núcleo se une con dos núcleos polares para dar origen a una célula madre del endospermo que es triploide (Cardone et al., 2010)

Durante la fase reproductiva, especialmente después de la polinización y durante la fecundación, las plantas de tomate, pueden experimentar estrés térmico al exponerse a temperaturas extremas durante un periodo de tiempo fuera del rango óptimo, el cual oscila entre 20 °C y 25 °C durante el día y entre 18 °C y 25 °C durante la noche (Tokić et al., 2023). Plantas de tomate aclimatadas o expuestas en periodos prolongados a temperaturas extremas, pueden responder al estrés térmico mediante modificaciones de desarrollo, fisiológicas y bioquímicas, lo que les permite sobrevivir en condiciones adversas (Florido, 2009).

2.2 Estrés térmico por temperaturas extremas

La tolerancia a temperaturas extremas presenta variación genética significativa en tomate. La mayoría de los genes de tolerancia a estas condiciones identificados en

tomate participan en la protección de las proteínas dentro del grano de polen o aseguran el suministro de azúcares hacia los tejidos reproductivos, particularmente hacia las anteras y el polen en desarrollo, donde son necesarios como fuente energética y osmótica (Rieu et al., 2017). Especies como *Solanum pimpinellifolium* y *Solanum habrochaites* muestran mayor tolerancia al estrés térmico y constituyen reservorios de variabilidad genética útiles en programas de mejoramiento (Foolad, 2007).

Genes metabólicos como *SlbZIP1* y *SlbZIP38* regulan el metabolismo de carbohidratos y aseguran la acumulación de almidón y azúcares solubles en el polen; esta función previene su inviabilidad por deficiencias energéticas (Pan et al., 2017). Otros genes de desarrollo floral, pertenecientes a la familia MADS-box, como *SIAGAMOUS-LIKE*, contribuyen a mantener la integridad estructural de la flor y prevenir deformaciones morfológicas que podrían causar esterilidad antes de la liberación del polen (Müller et al., 2016).

El uso de herramientas como GBS, transcriptómica y selección asistida ha permitido identificar regiones genómicas (QTLs) asociadas con la estabilidad reproductiva y desempeño del grano de polen bajo estrés térmico (Marín-Montes, 2022; Zhu et al., 2021).

2.3 Estrés térmico por temperaturas altas

El estrés térmico altera la sincronía del desarrollo morfológico y puede inducir el alargamiento del estilo fuera del cono de las anteras, fenómeno conocido como excerción estigmática. El éxito del cuajado depende de condiciones ambientales específicas: temperaturas entre 18 y 25 °C favorecen el proceso, mientras que valores superiores a 35 °C provocan aborto floral además temperaturas inferiores de 13 °C generan deformaciones en el fruto. La humedad relativa entre 60 y 70 % evita la desecación o aglomeración del polen y la adecuada luminosidad mantiene el desarrollo de nuevas flores sin detener su ciclo reproductivo (CFEA Guísamo, 2019).

El polen constituye uno de los tejidos más sensibles al estrés térmico debido a su bajo contenido de agua, su elevada actividad metabólica durante la germinación y su fuerte dependencia del equilibrio osmótico (Hedhly, 2011). Estas características exigen el mantenimiento de gradientes de presión y la adecuada disponibilidad de solutos para

sostener el crecimiento del tubo polínico. Tanto las temperaturas elevadas como las bajas reducen la viabilidad del polen, afectan su capacidad germinativa y disminuyen la tasa de alargamiento del tubo polínico, lo que repercute de manera directa en la fecundación y, en consecuencia, en el rendimiento del cultivo (Zinn et al., 2010). En este contexto, la tolerancia del polen a condiciones térmicas extremas se reconoce como un indicador clave del desempeño reproductivo en ambientes sujetos a estrés (Hedhly, 2011; Zinn et al., 2010). Dichos procesos presentan variabilidad entre cultivares (Hendly, 2011).

La comprensión de estos procesos requiere un análisis integral que considere la morfología floral, las redes de señalización hormonal y la regulación genética, como la excerción del estigma, disminución en los niveles de auxinas o la expresión de genes de choque térmico con el fin de identificar las etapas específicas de mayor susceptibilidad al estrés como la microsporogénesis y la antesis (Rieu et al., 2017).

El calor excesivo provoca desnaturalización de proteínas esenciales, altera la formación de la pared polínica y reduce la actividad mitocondrial (Zinn, 2010). Además, durante esta etapa máxima de vulnerabilidad se interrumpe la organogénesis temprana de las anteras y el desarrollo de las células madre del polen, lo que induce androesterilidad (Giorno et al., 2013). Este efecto se relaciona con alteraciones en procesos clave como la microsporogénesis y la diferenciación del tapete, lo que compromete la formación de granos de polen funcionales y reduce el cuajado de frutos (Pressman et al., 2002).

Durante periodos prolongados de estrés por altas temperaturas (14 días a 28 -34°C), la planta experimenta reprogramación metabólica donde el balance hormonal resulta determinante. El aumento en los niveles de ácido salicílico como respuesta general de aclimatación. Estos pueden interferir con la vía del ácido jasmónico una fitohormona indispensable para el desarrollo de los granos de polen. La atenuación de estas vías resalta como un mecanismo clave para restaurar la sensibilidad al ácido jasmónico y permitir la correcta maduración del polen bajo estrés térmico (Jansma et al., 2022).

La tolerancia a altas temperaturas de los granos de polen se sustenta en una red compleja de respuestas genéticas, epigenéticas y metabólicas. La activación de la respuesta al choque térmico mediada por factores de transcripción. En tomate, cuando

el polen detecta un aumento crítico de temperatura, genes como el *SIHsfA2* regulan la activación de la expresión de proteínas de choque térmico las cuales evitan que otras proteínas esenciales se desnaturalicen o se aglomeren, lo que asegura que el funcionamiento celular del polen continúe y permita la germinación y el crecimiento del tubo polínico (Hoshikawa et al., 2021).

La sobreproducción de especies reactivas de oxígeno (ROS), como el peróxido de hidrógeno, es uno más de los efectos que causan las altas temperaturas, lo que genera estrés oxidativo que causa la muerte celular. Sin embargo, genotipos de tomate tolerantes al calor poseen un sistema antioxidante más eficiente, el cual incluye enzimas como el superóxido dismutasa (SOD) y la catalasa (CAT), responsables de la neutralización de las ROS (Singh, 2022).

La sobreexpresión de la transglutaminasa (TGase) en tomate mejora la fotosíntesis mediante la estabilización de la proteína D1 y activa una red de genes relacionados con el procesamiento de proteínas en el retículo endoplásmico. Esto sugiere que la tolerancia del polen también depende de modificaciones postraduccionales que estabilizan las proteínas estructurales de la pared celular y las membranas del polen, lo que permite su supervivencia en temperaturas de hasta 42 °C (Serafini-Fracassini & Del Duca, 2008).

En altas temperaturas, el gen *SIHsfA2* regula la activación de la transcripción de proteínas de choque térmico específicas, entre ellas *SIHsp17.4-CII*. Estas proteínas funcionan como mecanismos de protección dentro de las anteras al mantener la estabilidad proteica y evitar la muerte celular del grano de polen durante su desarrollo (Fragkostefanakis et al., 2016; Giorno et al., 2010).

2.4 Estrés térmico causado por frío

En contraste, el frío extremo modifica la fluidez de las membranas y ralentiza la actividad metabólica. En tomate, temperaturas mayores de 25-30 °C o menores a 12 °C reducen la viabilidad de los granos de polen (Martínez, 2001).

Los mecanismos moleculares de la tolerancia a altas temperaturas comparten similitudes con los involucrados en la respuesta al frío. En este sentido, la

termotolerancia constituye un rasgo complejo que involucra también la regulación epigenética como la metilación del ADN y la acción de la microARNs (Singh et al., 2022). Bajo condiciones de frío o calor, la fluidez y elasticidad de la membrana celular es afectada en gran medida.

En bajas temperaturas, las plantas incrementan la instauración de los ácidos grasos para evitar la rigidez de la membrana mientras que, en altas temperaturas, ocurre lo contrario (Zhang et al., 2004). A pesar de estas diferencias, la señalización inicial del estrés térmico, caracterizada por la entrada de calcio al citosol y activación de quinasas, se mantiene como un mecanismo conservado que permite alertar al núcleo del polen (Rieu et al., 2017). La capacidad del polen para germinar depende, en última instancia, de su habilidad para mantener la integridad de su membrana plasmática y gestionar sus reservas de carbohidratos principalmente almidón y sacarosa bajo cualquiera de estas condiciones extremas (Pressman et al., 2002).

En cuanto a la respuesta a bajas temperaturas, la familia de genes *SICBF* inicia la cascada de aclimatación sistémica, lo que protege la integridad de las membranas celulares en las anteras, un proceso esencial para la maduración del polen (Zhang et al., 2004). A nivel funcional, el gen *SISGT2* contribuye a la estabilidad de estas membranas mediante la regulación de la síntesis de esteroides, que permiten el crecimiento del tubo polínico sin colapso estructural bajo condiciones de frío (Ramírez-Estrada et al., 2017). De igual forma, la enzima codificada por *SIGR1* protege al polen del estrés oxidativo inducido por las bajas temperaturas, mientras que el gen *LeNCED1* regula la síntesis de ácido abscísico (ABA), hormona que mantiene la viabilidad del gameto y la respuesta al estrés hídrico asociado al frío (Liu et al., 2012; Thompson et al., 2000).

2.5 Métodos de evaluación del polen (*in vitro* e *in vivo*)

Existen diversos métodos para evaluar la fertilidad y viabilidad del polen, los cuales difieren en precisión, rapidez y capacidad para estimar la funcionalidad real de los granos. Entre los más utilizados se encuentran las técnicas de tinción, los ensayos de germinación *in vitro* y los métodos fluorocromáticos.

La tinción con colorantes, como el 2,3,5-difeniltetrazoleo (TTC), sirven como indicador indirecto de viabilidad celular, ya que permite identificar la actividad metabólica a través de reacciones de reducción enzimática. Este método se caracteriza por su rapidez y facilidad; sin embargo, tiende a sobreestimar la viabilidad y el poder germinativo real de los granos de polen, debido a que no evalúa de manera directa la capacidad de emisión del tubo polínico (Heslop-Harrison & Heslop-Harrison, 1970).

La germinación en medios de cultivo artificiales (*in vitro*) permite estimar la fertilidad en forma confiable, ya que permite evaluar directamente la emisión y el crecimiento del tubo polínico. Esta técnica simula, en condiciones controladas, el desarrollo del tubo polínico en los tejidos estilares, debido a que el medio de cultivo asemeja en su composición al mucílago presente en el estigma. Este método puede variar en función de factores como genotipo, las condiciones ambientales previas, el grado de madurez del polen y la composición y pH del medio de cultivo (Brewbaker & Kwack, 1963).

La reacción fluorocromática mediante diacetato de fluoresceína (FDA) es uno de los métodos más utilizados para evaluar la viabilidad del polen. El FDA es un compuesto apolar, que atraviesa la membrana plasmática de células viables. Una vez en el interior, es hidrolizado por enzimas esterases, lo que deja libre la fluoresceína, un fluorocromo que emite fluorescencia verde brillante cuando se excita a una longitud de onda cercana a 490 nm. Debido a su naturaleza polar, queda retenida, acumulándose en aquellas células con el plasmalema bien conservada, lo que permite identificar los granos de polen viables a partir de la intensidad de la señal fluorescente (Rejón et al., 2010).

La técnica de doble marcaje con FDA y yoduro de propidio (PI) distingue simultáneamente células viables y no viables. El FDA se acumula dentro del citoplasma de los granos de polen viables tras su hidrólisis por esterases intracelulares, mientras que el PI se une a componentes de la pared celular, particularmente pectinas, y marca células con membranas dañadas. Este método permite una evaluación más precisa del estado fisiológico del polen (Ascari et al., 2020).

2.6 Importancia para la seguridad alimentaria

Desde una perspectiva poblacional, la diversidad genética vegetal, sujeta a procesos de selección y adaptación, favorece la obtención de genotipos con mayor tolerancia a

condiciones térmicas extremas (Foolad, 2007). No obstante, resulta necesario generar información precisa sobre la magnitud con la que el estrés térmico afecta la viabilidad del polen, su germinación y el crecimiento del tubo polínico bajo condiciones de altas y bajas temperaturas (Hedhly, 2011). Esto permitiría generar estrategias más eficientes de mejoramiento genético y manejo agronómico del cultivo del tomate ante la presencia de la variabilidad climática.

El incremento en la frecuencia e intensidad de eventos de temperaturas extremas, asociado con la variabilidad climática, prevé reducciones significativas en la producción global de tomate. En este contexto, el desarrollo de variedades tolerantes al estrés térmico es una prioridad para la sostenibilidad del cultivo; una vía para ello es lograr la termotolerancia del polen, especialmente en sistemas protegidos (altas temperaturas) y en campo abierto (bajas temperaturas) y en regiones áridas y semiáridas donde las temperaturas extremas limitan la reproducción y el cuajado del fruto (Hoshikawa et al., 2021; Singh et al., 2022; Bitá & Gerats, 2013).

Con base en lo anterior, es posible considerar que el desarrollo y la funcionalidad del polen son indicadores confiables de la termotolerancia de un genotipo, debido a que reflejan de manera directa la capacidad reproductiva de la planta bajo condiciones de estrés térmico.

3 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Ubicación

El experimento se realizó durante el año 2025 en el Programa de Mejoramiento Genético de Tomate (PMGT) de la Universidad Autónoma Chapingo (UACH), el cultivo se estableció en un invernadero de tecnología media tipo “full vent”, (19°29’35” LN, 98°52’19” LO y 2,267 msnm) con plástico calibre 600, de color blanco lechoso, con 80 % de transmitancia y filtro UV, durante los meses de febrero a septiembre. El análisis de las muestras se realizó en el laboratorio de Marcadores Moleculares del Departamento de Fitotecnia de la misma institución.

3.2 Genotipos

Se evaluó el grano de polen de 6 genotipos de tomate. El conjunto incluyó cuatro líneas homocigotas (RF1, RF12, RF38, RF41), un híbrido experimental (47B/47S8) del PMGT y el híbrido comercial (Macizo HM Clause®).

3.3 Establecimiento del cultivo

La siembra se realizó el 22 de febrero de 2025 en charolas de poliestireno de 200 cavidades. Se empleó espuma agrícola (marca Oasis) como sustrato. El trasplante se realizó 15 días después en macetas de polietileno de 40 x 40 cm con capacidad de 15 L.

Se usó roca volcánica (tezontle) como sustrato, con granulometría menor a 3 mm. Se colocaron dos plantas por maceta y la densidad de plantación fue de 3.3 plantas por metro cuadrado de invernadero.

3.4 Obtención de granos de polen

A los 53 días después del trasplante (DDT), se recolectaron anteras de flores en antesis del cuarto racimo. La extracción de los granos de polen se realizó mediante vibración mecánica con un cepillo eléctrico (Oral-B Pro, Series 1). El polen fue llevado a laboratorio para su análisis.

3.5 Temperaturas ensayadas tiempos de exposición

En laboratorio, los granos de polen fueron expuestos a tres temperaturas. La primera de 5 °C en refrigerador (SAMSUNG, Modelo: RF32CG5N10S9EM). La segunda a 40 °C en estufa (Thermo SCIENTIFIC). La tercera se mantuvo a temperatura ambiente entre 18 a 25 °C.

Los tiempos de exposición del grano de polen a las diferentes temperaturas fueron de 6, 12 y 24 horas.

3.6 Experimento 1. Germinación de polen en condiciones *in vitro*

La unidad experimental consistió en un portaobjetos con dos secciones de medio de cultivo semisólido de 1 x 1 cm. El medio se preparó con sacarosa al 15%, agar a 6 g L⁻¹ y ácido bórico (H₃BO₃) a 100 mg L⁻¹, con pH ajustado a 5.5.

Los granos de polen se dispersaron sobre el medio de cultivo con ayuda de un pincel de cerdas naturales (pelo de animal). Para evitar la deshidratación del medio y afectaciones al polen, los portaobjetos se colocaron en de cajas plásticas tipo sandwicheras (20 x 18 x 5 cm). En el interior de cada caja se colocó una hoja de papel filtro humedecido con agua destilada.

Las muestras se expusieron a temperaturas de 5, 25 y 40 °C durante 6, 12 y 24 horas, según el tratamiento correspondiente.

Después del tratamiento térmico, se realizó una tinción con solución lacmoide al 5 %, disuelta en etanol al 30 % y NaHCO₃ al 5 %. El tiempo de tinción fue de 20 min.

3.6.1 Manejo experimental

Se consideraron tres factores de estudio: genotipos, temperaturas y horas de exposición con un diseño de tratamientos factorial completo 6 x 3 x 3, con un total de 54 tratamientos.

El diseño experimental fue completamente al azar con ocho repeticiones. La unidad experimental correspondió a un campo de observación. Las observaciones se realizaron con microscopio óptico Zeiss Axio (Lab. A1) con objetivo 40x. Se capturaron imágenes digitales que fueron procesadas con el programa ImageJ (v1.54r; SOFTONIC; <https://imagej.softonic.com/>: octubre 2025). Se consideró un campo de observación como una repetición.

3.6.2 Caracteres evaluados

Se evaluaron el porcentaje de polen germinado (**PGER**) y longitud del tubo polínico (**LTP**). En cada unidad experimental se realizaron cuatro conteos (submuestreos) correspondientes a 33 % del campo fotografiado. Se consideró a un grano de polen germinado cuando presentó la emisión del tubo polínico.

3.7 Experimento 2. Germinación y viabilidad de granos de polen *in vivo*

3.7.1 Porcentaje de germinación y supervivencia de granos de polen

Se seleccionaron nueve flores por genotipo y se realizó la emasculación antes de la antesis. De forma simultánea, se recolectó polen de flores en antesis, el cual se colocó en tubos Eppendorf. En laboratorio, el polen fue expuesto a las temperaturas de 5 y 40 °C, así como temperatura ambiente (25-28 °C) durante 48 horas.

Posteriormente, el polen tratado se utilizó para polinizar las flores previamente emasculadas en estado receptivo.

Después de la polinización, se recolectaron tres estilos por genotipo a las 24, 48 y 72 horas. Los estilos se fijaron en una solución compuesta por etanol 100 % y ácido acético glacial al 100 % en proporción 2:1).

Las muestras se lavaron en agua corriente y se expusieron a una solución de NaOH a 8 N durante 24 horas para el ablandamiento del tejido. Se retiró la solución con agua destilada y se aplicó la tinción con solución lacmoide al 0.5 % disuelta en etanol al 30 % y NaHCO₃ al 5 %, durante 20 min.

Los pistilos se montaron en portaobjetos donde fueron seccionados en tres partes: superior, media y basal. Se colocó un cubreobjetos y se aplicó mediante la técnica de aplastamiento con ayuda de una goma de lápiz.

Las observaciones se realizaron en microscopio (Zeiss Axio) con objetivo 10x. Se obtuvieron imágenes digitales, las cuales fueron procesadas con el programa ImageJ (v1.54r; SOFTONIC; <https://imagej.softonic.com/>: octubre 2025).

3.7.2 Manejo experimental

El diseño de tratamientos fue factorial 6 x 3 x 3 x 3 (genotipos, temperaturas, horas de muestreo y secciones), con un total de 162 tratamientos. La unidad experimental fue un segmento de pistilo, de acuerdo con el tratamiento. Se empleó un diseño experimental completamente al azar.

3.7.3 Caracteres evaluados

A partir de las imágenes capturadas de los estigmas, se determinó el número de granos de polen adheridos al estigma (NGAE); además de determino el número de tapones de calosa en cada sección del estilo (NTC). Se estimó el porcentaje de supervivencia del polen (**PGP**) mediante la fórmula $PGP = (NTC/NGAE) \cdot 100$ (Hedhly et al., 2004).

3.8 Prueba de viabilidad

Los granos de polen extraídos de anteras de flores en antesis del cuarto racimo se colocaron en unidades experimentales que consistieron en un portaobjetos con dos

secciones de medio de cultivo semisólido de 1 x 1 x 0.2 cm. El medio se preparó con: sacarosa al 15 %, agar (6 g·L⁻¹), H₃BO₃ (100 mg L⁻¹), con pH ajustado a 5.5.

Los granos de polen se dispersaron con ayuda de un pincel de cerdas naturales. Se aplicó una tinción con 2, 3, 5-trifeniltetrazolio al 1 % con un tiempo de reacción de 30 min a 40 °C en estufa (Thermo SCIENTIFIC). Para evitar la deshidratación del medio de cultivo y afectaciones a los granos, los portaobjetos se colocaron en cajas plásticas tipo sandwicheras (20 x 18 x 5 cm) con una hoja de papel filtro previamente humedecido con agua destilada.

Posteriormente, las muestras se expusieron a temperaturas de 5, 25, 40 °C durante 48 h. Las observaciones se realizaron en microscopio (Zeiss Axio) con objetivo 10x. Se obtuvieron imágenes digitales, las cuales fueron procesadas con el programa ImageJ (v1.54r; SOFTONIC; <https://imagej.softonic.com/>: octubre 2025).

3.8.1 Manejo experimental

El diseño de tratamientos fue factorial 6 x 3 x 3 (genotipos, temperaturas y horas de muestreo), con un total de 54 tratamientos. La unidad experimental fue un campo de observación del microscopio. Se empleó un diseño experimental completamente al azar con tres repeticiones.

3.8.2 Caracteres evaluados

Se registró el porcentaje del número de granos de polen viables y no viables; se consideró como grano de polen viable aquellos teñidos de color rojo intenso.

3.9 Análisis estadístico

En todos los caracteres evaluados, el análisis estadístico se realizó mediante la prueba de Kruskal-Wallis (1952), la cual está diseñada para aplicarse en un diseño completamente al azar donde se tienen r_i muestras aleatorias de cada uno de los t_i tratamientos. Adicionalmente, se realizaron comparaciones múltiples de promedios de rangos de tratamientos ($p \leq 0.05$). Los análisis se realizaron con el paquete estadístico SAS, versión 9.

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el ensayo de germinación *in vitro*, las pruebas de Kruskal-Wallis indicaron variación significativa ($\alpha \leq 0.01$) de los tratamientos en los caracteres porcentaje de germinación (PGER) y longitud de tubo polínico (LTP).

En el ensayo *in vivo* también se aplicaron estas pruebas con las cuales se detectó diferencia significativa en los efectos de tratamientos ($\alpha \leq 0.01$) en las variables porcentaje de viabilidad (PVIA) y porcentaje de germinación (PGP).

De acuerdo lo anterior, se realizaron comparaciones múltiples de medias de rangos de acuerdo con Conover (1999).

1. Cuadro 1. Resultados de las pruebas de Kruskal- Wallis aplicadas a los caracteres evaluados de las pruebas *in vitro* e *in vivo* en tomate

Experimento	Carácter	T ¹	Pr>T
<i>in vitro</i>	PGER	900.2851	0
	LTP	938.6786	0
<i>in vivo</i>	PGP	103.93	9.3x10 ⁷
	PVIA	70.046	9.796x10 ⁹

Debido a lo anterior se procedió a realizar las comparaciones de promedios de rangos de acuerdo con Conover (1999); 1-Estadístico T de Kruskal-Wallis Conover (1999); Carácter evaluado, PGER: Porcentaje de Germinación, LTP: Longitud de Tubo Polínico, PGP: Porcentaje de Germinación de Polen, PVIA: Porcentaje de Viabilidad, Pr>T: Probabilidad mayor que el valor estadístico T.

4.1 Experimento 1. Germinación de polen en condiciones *in vitro*

Los mayores porcentajes de germinación se registraron en RF1, RF12 y RF38, principalmente en 5 y 25 °C (Cuadro 1A), mientras que RF41 y los híbridos presentaron los valores más bajos. En 40 °C, particularmente a las 12 h de exposición, algunos genotipos se ubicaron en grupos estadísticos inferiores, lo que indicó un efecto negativo de esta temperatura sobre la germinación del polen.

Las diferencias observadas indicaron que la germinación del polen dependió del genotipo y de la temperatura de exposición. RF1, RF12 y RF38 mantuvieron porcentajes de germinación estadísticamente superiores bajo condiciones de estrés térmico, lo que sugirió una mayor estabilidad fisiológica del polen. Resultados similares fueron reportados por Hedhly et al. (2011) y Zinn et al. (2010), quienes señalaron que las temperaturas extremas

afectaron directamente la viabilidad y germinación del polen debido a alteraciones osmóticas, daño oxidativo y reducción en la disponibilidad de carbohidratos necesarios para el crecimiento del tubo polínico.

4.1.1 Efecto de la temperatura sobre la germinación del polen

Los genotipos con mayor tolerancia en 5 °C se expresaron a las 6 h de exposición (Figura 1 A), donde RF1 (67.9 %) se ubicó en el primer grupo de significancia y en un segundo grupo de significancia se encontraron RF38 y RF12 (46.3 y 40.14 %, respectivamente). El resto de genotipos (47/47, Macizo y RF41) fueron los más susceptibles con PGER menor que 10 %. En 12 y 24 h de exposición. Con 5 °C, el comportamiento, fue prácticamente el mismo, donde destacaron RF1 y RF38 con PGER cercanos a 50 %, fueron superiores estadísticamente al resto de genotipos (Figuras 1B y 1C). Al atender la temperatura ambiental con promedio 25 °C, los genotipos tuvieron comportamiento similar.

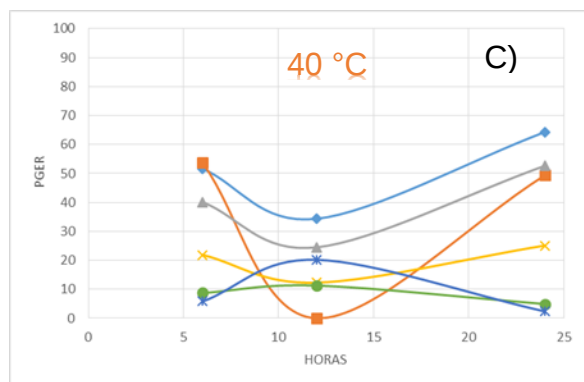
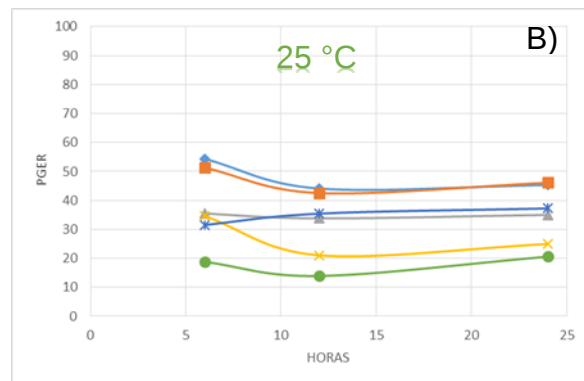
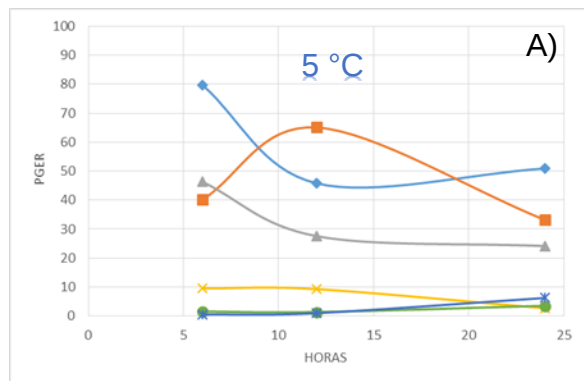


Figura 1. Porcentajes de germinación de polen de los seis genotipos de tomate expuestos a temperaturas de A) 5 °C, B) 25 °C y C) 40 °C durante 6, 12 y 24 h.

RF1 RF12 RF38 RF41 47/47 MAC

Así, RF1 y RF12 presentaron mayores porcentajes de germinación en las tres temperaturas ensayadas (Figuras 1A, 1B y 1C), con valores cercanos a 50 %, ubicados en los primeros grupos de significancia. En contraste, 47/47 presentó los menores porcentajes de germinación, con PGER menor que 21 %.

En 40 °C se presentó la mayor variabilidad, a las 12 h PGER registro la mayor susceptibilidad con valores cercanos a cero. En 24 h, RF1, RF12 y RF38 incrementaron su PGER; en tanto que RF41 y 47/47 (4.93 y 2.35 % respectivamente) permanecieron en los grupos con menor expresión. De tal manera que en temperaturas altas RF1, RF12 y RF38 mostraron mayor tolerancia al ubicarse en los grupos de mayor expresión de PGER ($\alpha \leq 0.01$). Estas diferencias indicaron que la capacidad de germinación del polen depende del genotipo, con materiales que se separan claramente en los grupos de tolerancia y sensibilidad bajo estrés térmico (Figura 1C).

Resultados similares fueron reportados por Sato et al. (2002) y Peet et al. (2003), quienes señalaron que las temperaturas extremas redujeron la germinación del polen y afectaron la capacidad reproductiva del tomate.

4.1.2 Efecto del tiempo de exposición sobre la germinación del polen

En 6 h de exposición (Figura 2A), RF1 tuvo el mayor PGER en 5 y 25 °C, con valores superiores a 50 % en los primeros grupos de significancia. En 40 °C destacó RF12 (53.69 %). El resto de genotipos (47/47, Macizo y RF41) presentaron PGER menor que 22 %.

En 12 h (Figura 2B) en 5 °C, RF12 y RF1 (65.09 %) se ubicaron en el grupo más alto. En 25 °C, la respuesta fue más estable, aunque RF12 (42.56%) mostró una disminución colocándose en el último grupo de significancia, debido tal vez a un error de muestreo. En 40 °C, el comportamiento fue similar a los 5 °C.

En 24 h de exposición (Figura 2C), RF1 tuvo el mayor porcentaje de germinación en 40 °C (64.32 %) y se ubicó en el primer grupo de significancia. RF12 y RF38 con valores cercanos a 50 %, no difirieron con respecto a RF1. Los híbridos Macizo y 47/47 fueron los más susceptibles con PGER menor que 7 %.

Giorno et al. (2013) señalaron que exposiciones prolongadas a temperaturas extremas redujeron la funcionalidad del polen, comportamiento observado en RF41, 47/47 y Macizo.

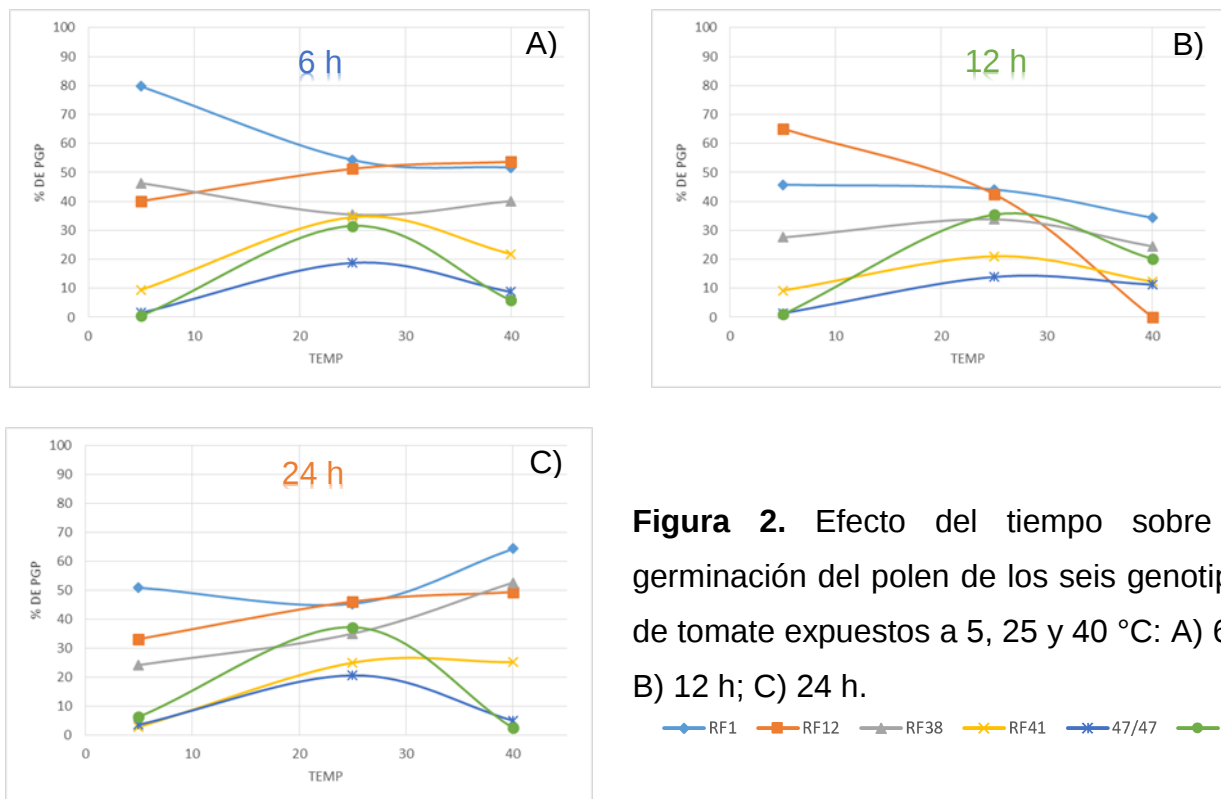


Figura 2. Efecto del tiempo sobre la germinación del polen de los seis genotipos de tomate expuestos a 5, 25 y 40 °C: A) 6 h; B) 12 h; C) 24 h.

RF1 RF12 RF38 RF41 47/47 MAC

La Figura 3 mostro el mayor PGER en RF1 a 5 °C durante 6 h de exposición (79.7 %) y se ubicó en el primer grupo de mayor expresión. RF12 tuvo el mayor valor a las 12 h (65.09 %) ubicado en los siguientes grupos con menor expresión de esta variable. Así, RF1 mantuvo valores cercanos a 50 % a las 12 y 24 h. RF41, 47/47 y Macizo fueron los más susceptibles en 5 °C, con PGER menor que 10 %.

En 25 °C, RF1 y RF12 presentaron los mayores porcentajes de germinación durante los tres tiempos de exposición, con valores entre 42 y 54 %, ubicados en los grupos de mayor significancia. En contraste, RF41, 47/47 y Macizo fueron más susceptibles.

En 40 °C, RF1 presentó el mayor PGER a las 24 h (52.4 %) y se ubicó en grupos de mayor significancia. RF12 y RF38 presentaron valores cercanos a 50 %, superiores estadísticamente a RF41, 47/47 y Macizo, cuyos valores fueron menores que 22 %.

Sato et al. (2002) y Giorno et al. (2013), obtuvieron resultados similares y señalaron que temperaturas extremas redujeron la germinación del polen debido a alteraciones metabólicas y daño celular.

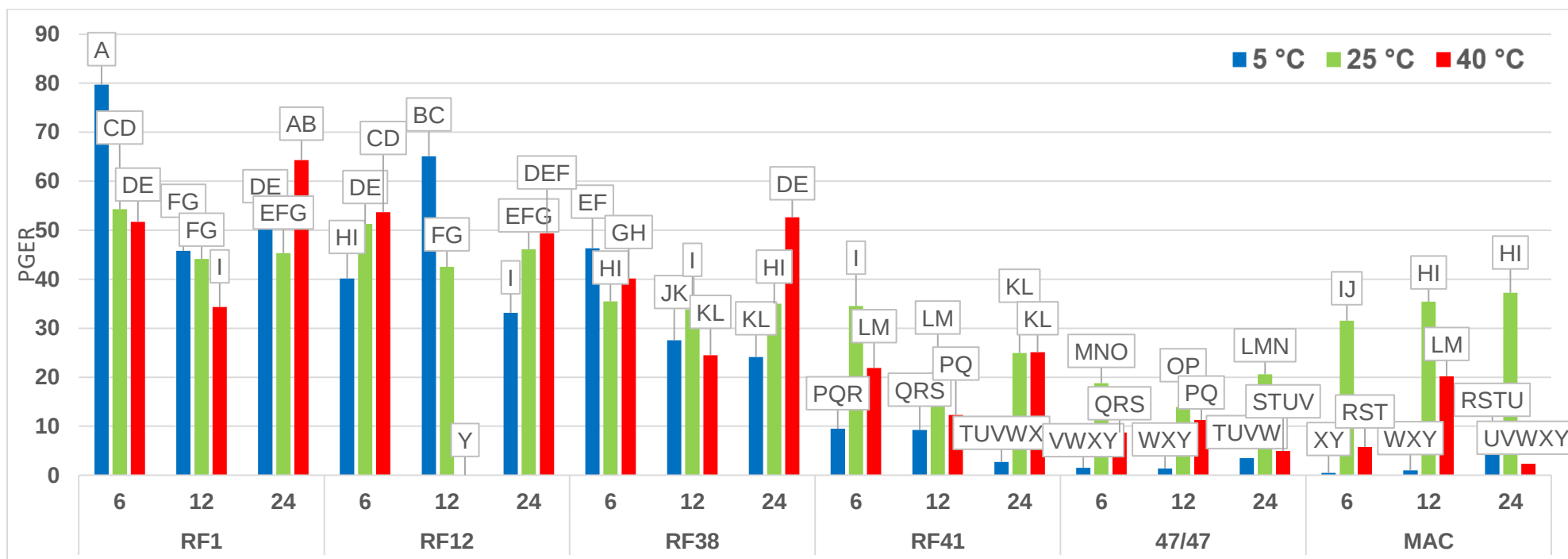


Figura 3. Porcentaje de germinación relativo (PGER) de seis genotipos de tomate evaluados bajo distintos tratamientos térmicos y tiempos de exposición; cifras con la misma letra no difieren en forma significativa ($\alpha \leq 0.05$).

4.2 Longitud de tubo polínico

El Cuadro 2A presenta la comparación de medias de rangos para LTP, donde se observaron diferencias significativas entre tratamientos, con valores entre 0.06595 y 0.001 mm. Valores altos se registraron en 25 °C, donde RF12 (0.06595 mm) y RF38 (0.0649 mm) se ubicaron en el primer grupo de significancia. En contraste, en 5 y 40 °C se registraron valores entre 0.001 y 0.004 mm, significativamente inferiores respecto en 25 °C. Lo anterior indicó que 25 °C favoreció el crecimiento del tubo polínico, mientras que temperaturas extremas limitaron su desarrollo.

Pressman et al. (2002) y Fragkostefanakis et al. (2016), tuvieron resultados similares donde las temperaturas extremas limitaron el crecimiento del tubo polínico debido a alteraciones metabólicas y daño celular.

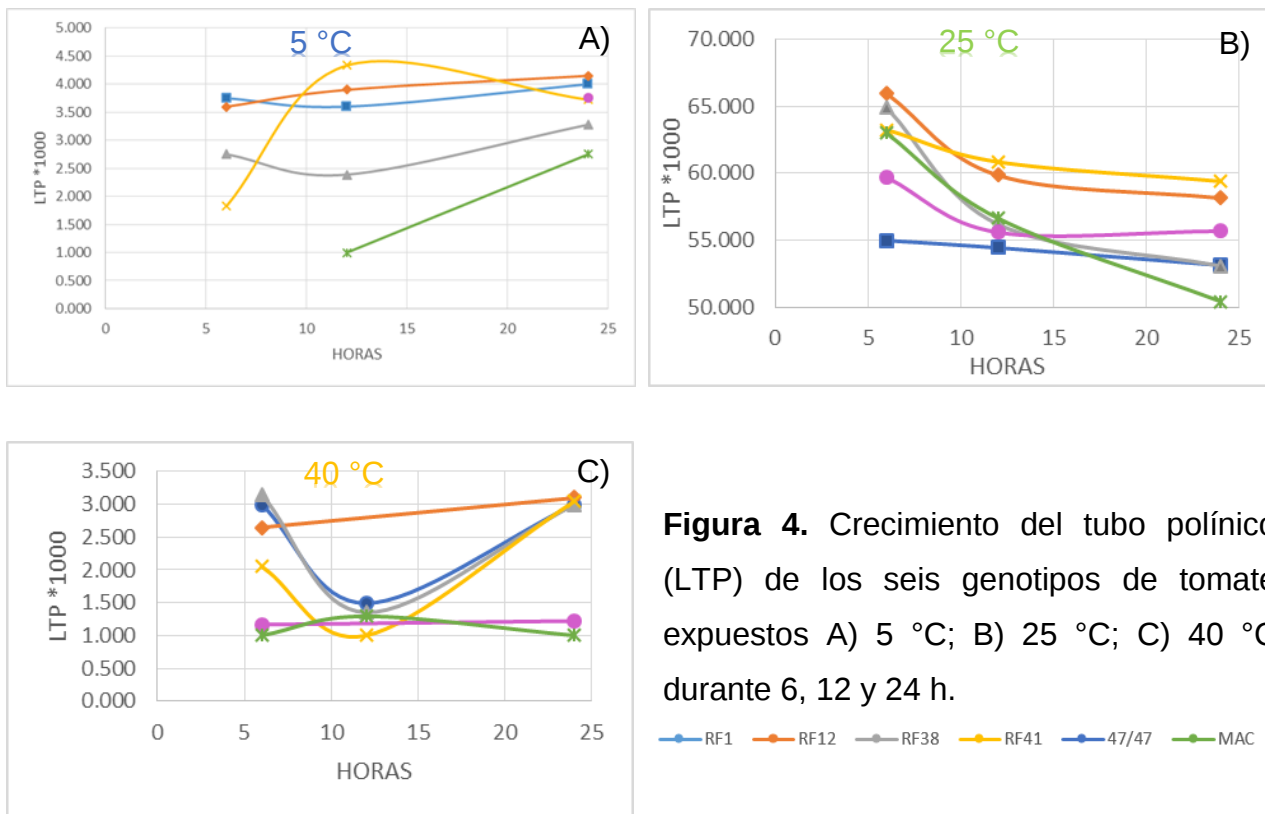
4.2.1 Efecto de la temperatura sobre la longitud del tubo polínico

En 5 °C (Figura 4A), LTP mantuvo valores bajos y diferencias entre genotipos. RF1 (0.00375 mm, E) y RF12 (0.00360 mm, EF) mostraron los valores más altos en 6 h, sin diferencia estadística significativas. RF38 (0.00275 mm, FGH) y RF41 (0.00182 mm, JK) tuvieron menor alargamiento.

En 25 °C (Figura 4B), LTP alcanzó los valores máximos con RF12 (0.06595 mm), RF38 (0.0649 mm) y RF41 (0.06325 mm) dentro del primer grupo de significancia. Macizo (0.05045 mm) tuvo la menor expresión de esta variable en 24 h. Esta temperatura fue la condición óptima para expresar el mayor crecimiento del tubo polínico.

En 40 °C (Figura 4C) LTP disminuyó de forma drástica. En 12 h se observaron los valores más bajos en RF41 (0.001 mm) y Macizo (0.00129 mm). En 24 h, RF12 (0.00310 mm, EFG), RF38 (0.00300 mm) y RF41 (0.00305 mm) incrementaron LPT. 47/47 y Macizo permanecieron en grupos de menor expresión, por lo que fueron más sensibles al calor.

Hedhly (2011) indicó que las temperaturas extremas redujeron el crecimiento del tubo polínico debido a alteraciones en membranas celulares y reducción de la actividad metabólica.

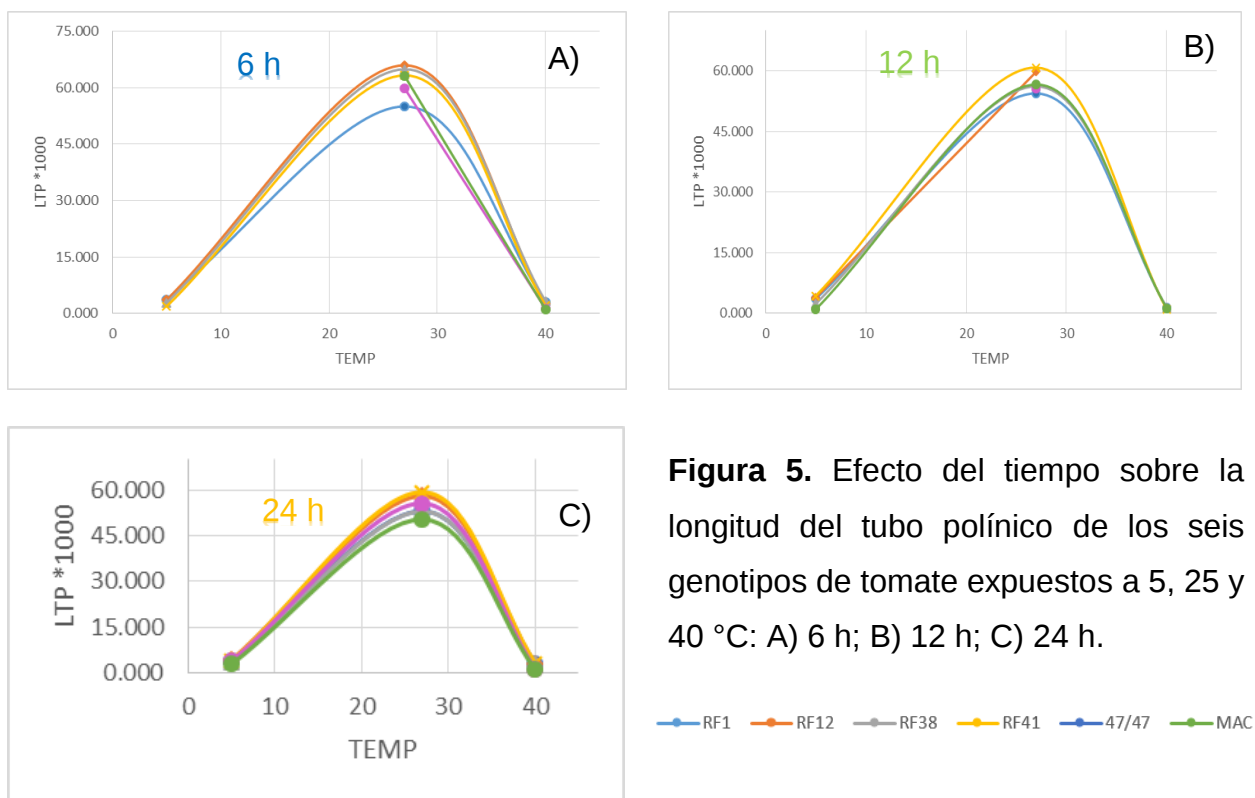


4.2.2 Efecto del tiempo de exposición sobre la longitud del tubo polínico

En 5 y 40 °C LTP mostró los valores más bajos (0.003–0.004 y 0.002–0.003 mm, respectivamente), sin diferir estadísticamente en ambas temperaturas (Figura 5A). En 25 °C los valores más altos fueron de RF12 (0.06595 mm), RF38 (0.0649 mm), RF41 (0.06325 mm) y Macizo (0.063 mm) sin diferencias estadísticas entre ellos.

En 12 h (Figura 5B) LTP mantuvo un comportamiento similar al de 6 h. en las tres temperaturas. En 5 °C se registraron valores bajos (0.003–0.004 mm). En 25 °C, los valores se mantuvieron altos (0.055–0.060 mm), sin diferencias estadísticas entre genotipos. En 40 °C, los valores fueron cercanos a 0.001–0.002 mm, estadísticamente diferentes a los de 25 °C.

En 24 h (Figura 5C) LTP en 5 y 40 °C se mantuvo con valores bajos (0.002–0.004 mm). En 25 °C, se alcanzaron los valores máximos (0.053–0.059 mm), superando ($\alpha \leq 0.01$) a las otras temperaturas.



La longitud del tubo polínico (Figura 6) en 25 °C, mostró los valores más altos (0.053–0.066 mm), con tratamientos dentro del grupo de mayor significancia. En 5 °C disminuyó LPT significativamente (0.002–0.005 mm) y en 40 °C se registró la menor expresión de esta variable, siendo estadísticamente diferente con respecto a 25 °C.

En relación con el tiempo, en 6 h se alcanzaron los valores máximos de LTP; a 12 h se presentó disminución general, y en 24 h se observó aumento en algunos genotipos. RF12, RF38 y RF41 mostraron mayor estabilidad al mantenerse en grupos de mayor expresión bajo condiciones favorables, mientras que 47/47 y Macizo se mantuvieron en los grupos de menor expresión, lo que indica la sensibilidad de los granos de polen al estrés térmico. Así, en términos de la LTP, la temperatura en la que presentó su mayor desarrollo fue a 25 °C; además, tuvo disminuciones significativas en condiciones de temperatura extrema.

Resultados similares fueron reportados por Giorno et al. (2013), al señalar que exposiciones prolongadas a temperaturas extremas alteraron la microsporogénesis y redujeron la funcionalidad del polen. La susceptibilidad observada en RF41, 47/47 y Macizo pudo relacionarse con menor estabilidad fisiológica bajo estrés térmico.

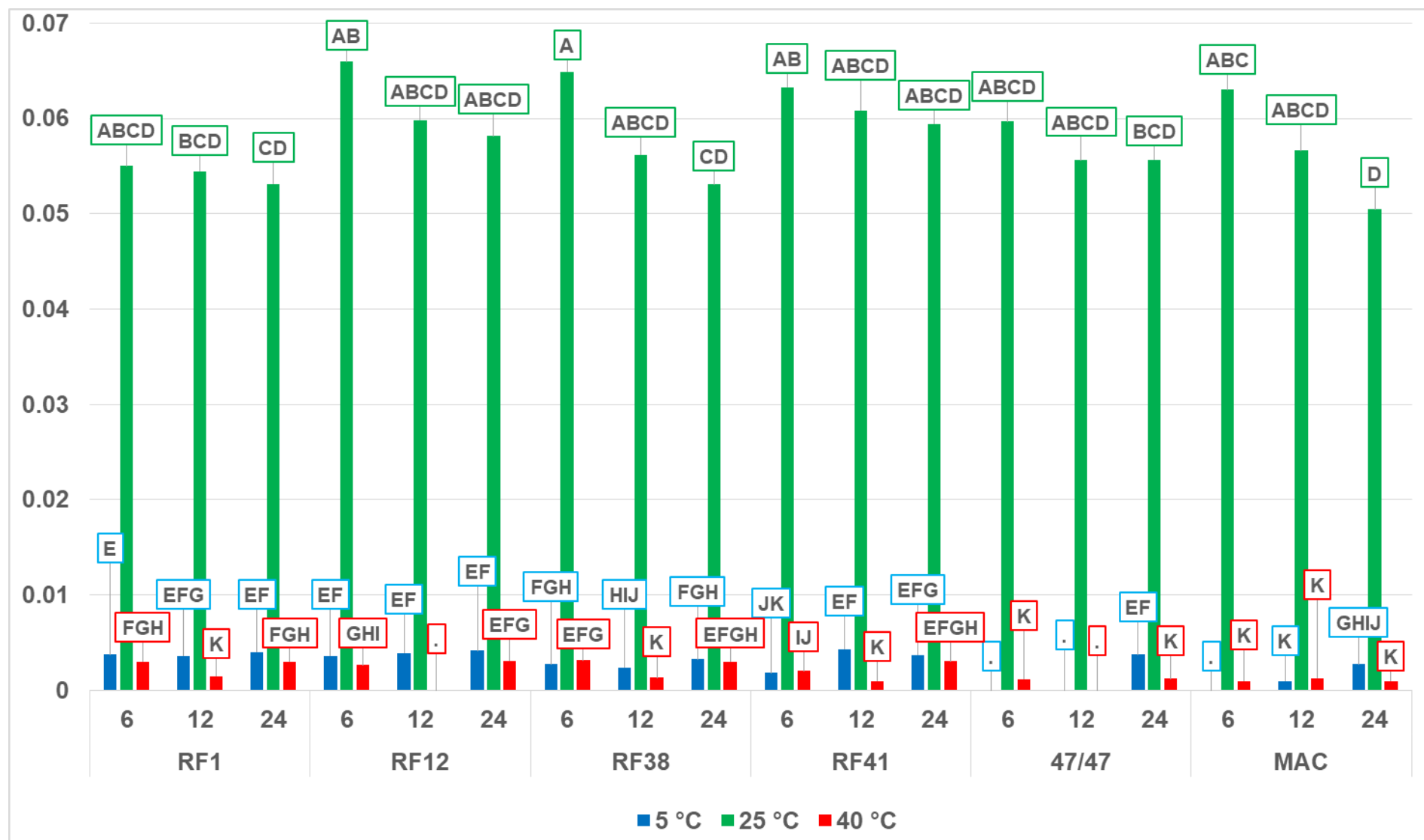


Figura 6. Efecto de la temperatura y el tiempo de exposición sobre la longitud del tubo polínico (LTP) en diferentes genotipos de tomate; cifras con la misma letra no difieren en forma significativa ($\alpha \leq 0.05$).

4.3 Experimento 2. Germinación y viabilidad de granos de polen *in vivo*

4.3.1 Germinación del grano de polen

En el Cuadro 3A se presentaron las comparaciones de medias de rangos para porcentaje de germinación de granos de polen (PGP) donde los valores más altos fueron RF38 (81 %,) y RF12 (69 %) en 5 °C 48 h dentro del primer grupo de significancia y en 40 °C a 48 h, se ubicaron en los grupos de mayor expresión. Los PGP más bajos ocurrieron en RF41 (7 %) a 48 h y RF38 (13 %) en 40 °C, con 24 h de exposición, ambos en grupos de menor expresión respecto a RF38 y RF12 en 5°C. La temperatura de 25 °C mostró valores intermedios al ser menores que los registrados en 5 °C y mayores que los obtenidos en 40 °C ($\alpha \leq 0.01$).

A las 48 h los valores más altos de PVIA correspondieron a RF38 (81 %) y RF12 (69 %) en el primer grupo de significancia. En 24 h los valores fueron intermedios al disminuir significativamente. En 48 h, Macizo y 47/47 redujeron en más de 50 % el PVIA por lo que tuvieron la menor expresión de esta variable. En 72 h se manifestó otra disminución significativa en todos los genotipos.

4.3.1.1 Efecto de la temperatura sobre la germinación del polen

En 5 °C (Figura 7A), PGP durante 48 h obtuvo los valores más altos, con RF38 (81 %) y RF12 (69 %, AB), no se encontró diferencias significativas. En 24 h los valores fueron intermedios los grupos C–G. En 72 h ocurrió una disminución general en los grupos MN–XY. 47/47 obtuvo los valores más bajos, con diferencia significativa, existe interacción genotipo $\times$ tiempo.

En 25 °C (Figura 7B), PGP obtuvo los valores intermedios. En 24 h, RF12 (36 %, DE) fue el valor más alto, RF41 y 47/47 (13–18 %, LM–NO) fueron los más bajos, se encontraron diferencias significativas. En 48 h, RF38 (40 %, CD) fue el más alto, sin diferencias significativa. En 72 h, RF38 (48 %, BC) y RF12 (45 %, BC) a pesar de ser los más altos no se obtuvieron diferencias entre ellos.

En 40 °C (la Figura 7C) durante 24 h el PGP de RF12 (45 %, DE) fue el más alto y RF38 (12 %, PQ) el más bajo, con diferencia significativa. En 48 h, RF12 (52 %, BC) alcanzó el máximo, mientras RF41 (6 %, grupo R) fue más bajo. En 72 h, RF12 mostró mayor estabilidad en BC–DE; 47/47 y MAC fueron los más sensibles al estrés. Resultados afines fueron reportados por Giorno et al. (2013), quienes señalaron que las temperaturas extremas redujeron el crecimiento del tubo polínico dentro del estilo y limitaron la fecundación.

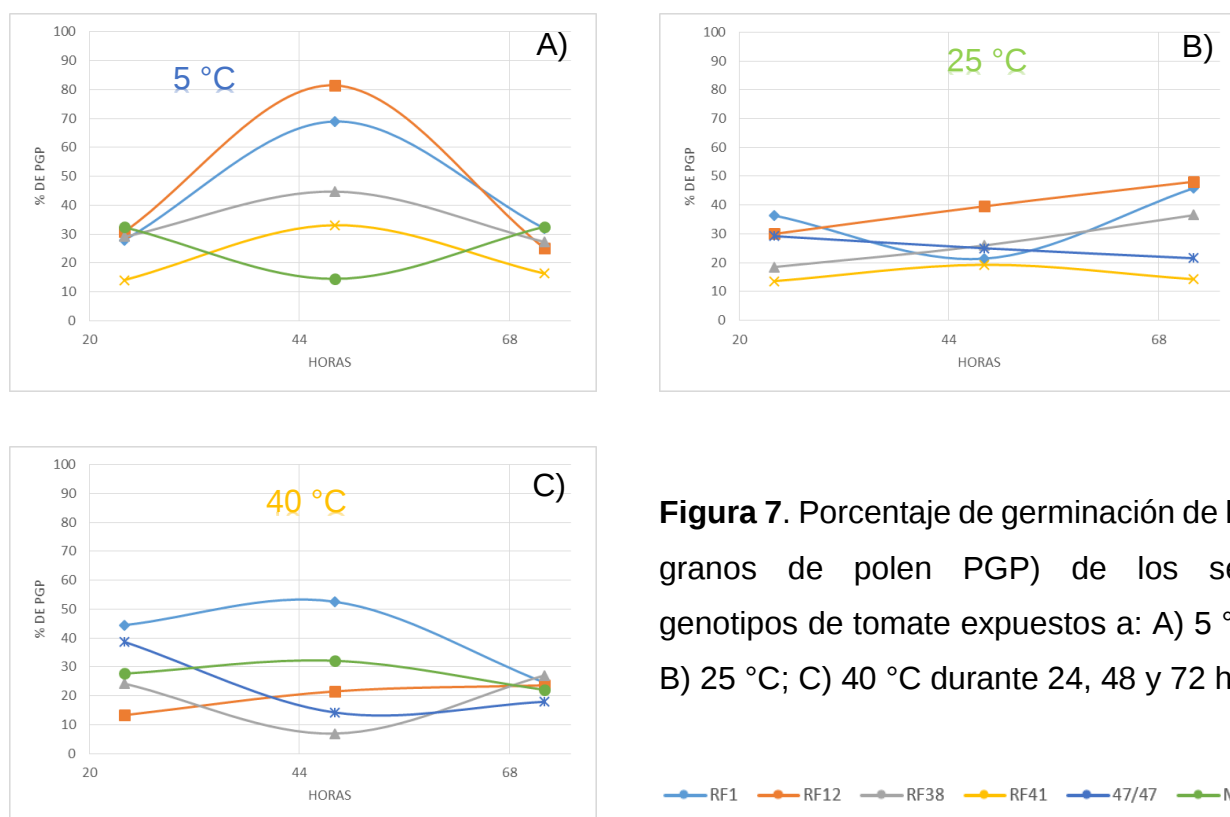


Figura 7. Porcentaje de germinación de los granos de polen (PGP) de los seis genotipos de tomate expuestos a: A) 5 °C; B) 25 °C; C) 40 °C durante 24, 48 y 72 h.

4.3.1.2 Efecto del tiempo sobre la germinación del grano de polen

En 24 h (Figura 8C), PGP mostró variaciones según la temperatura y el genotipo. En 5 °C, Macizo (32 %, KL) y 47/47 (31 %, KL) fueron los valores más altos, sin diferencia significativa. En 25 °C, RF12 (36 %, DE) fue el valor más alto, mientras RF41 (13, LM) fu el más bajo, lo que arrojó diferencias significativas. En 40 °C, RF12 (45 %, DE) fue el más alto y RF38 (13 %, PQ) el más bajo. Por lo que la respuesta dependió del genotipo.

En 48 h (Figura 8B), PGP mostró mayor diferenciación, en 5 °C, RF38 (81 %, A) fue el valor más alto, con diferencias significativas. En 25 °C, RF38 (40 %, CD) fue el más alto y 47/47 (20 %, FG) el más bajo. En 40 °C, RF12 (52 %, BC) fue el más alto, mientras RF41 (6 %, R) el más bajo. En este lapso de tiempo se logró distinguir posibles genotipos tolerantes.

En 72 h (la Figura 8C), PGP a 5 °C, obtuvo rangos bajos a moderados; donde Macizo (32 %, KL) fue el más alto y 47/47 (16 %, MN) el más bajo. A 25 °C, se registraron valores más altos con RF38 (48 %, BC) y RF12 (45 %, BC), no se encontraron diferencias significativas. En 40 °C, el más alto fue RF41 (27 %, HI) y 47/47 (18 %, KL) como el más bajo. La respuesta fue más homogénea, donde la germinación dependió de la temperatura.

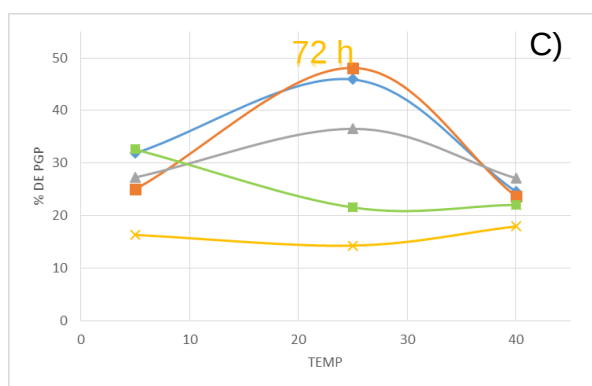
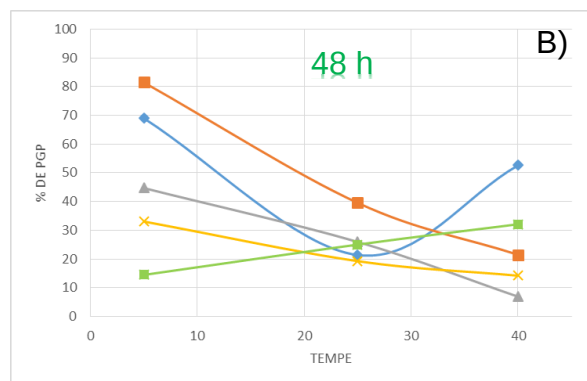
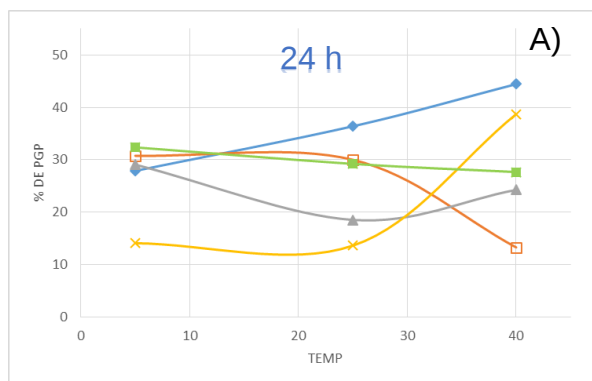


Figura 8. Porcentajes de germinación de polen (PGP) de los seis genotipos de tomate expuestos a temperaturas de 5, 25 y 40 °C: A) 24 h, B) 48 h y C) 72h.

—●— RF1 —■— RF12 —▲— RF38 —×— RF41 —◆— 47/47 —■— MAC

En la Figura 9 PGP presentó diferencias significativas según los tratamientos. En 48 h se obtuvieron los valores máximos, con RF38 (81 %, A) y RF12 (69 %, AB) en 5 °C, no mostraron diferencias significativas. En 40 °C, RF12 (52 %, AB) mantuvo valores altos, mientras RF41 (7 %, R) presentó el mínimo. A 25 °C, se obtuvieron valores intermedios.

El tiempo determinó el comportamiento de PGP, en 24 h los valores fueron intermedios. En 48 h se mostró la mayor diferencia (7–81 %, A–R). En 72 h se estabilizaron. RF12 y RF38 fueron los mejores, por lo que la distribución de letras indicó interacción temperatura × tiempo × genotipo y variabilidad genética en la tolerancia al estrés térmico.

Rieu et al. (2017) señalaron que los genotipos tolerantes mantuvieron el crecimiento del tubo polínico y la funcionalidad reproductiva bajo estrés térmico debido a una mejor estabilidad fisiológica.

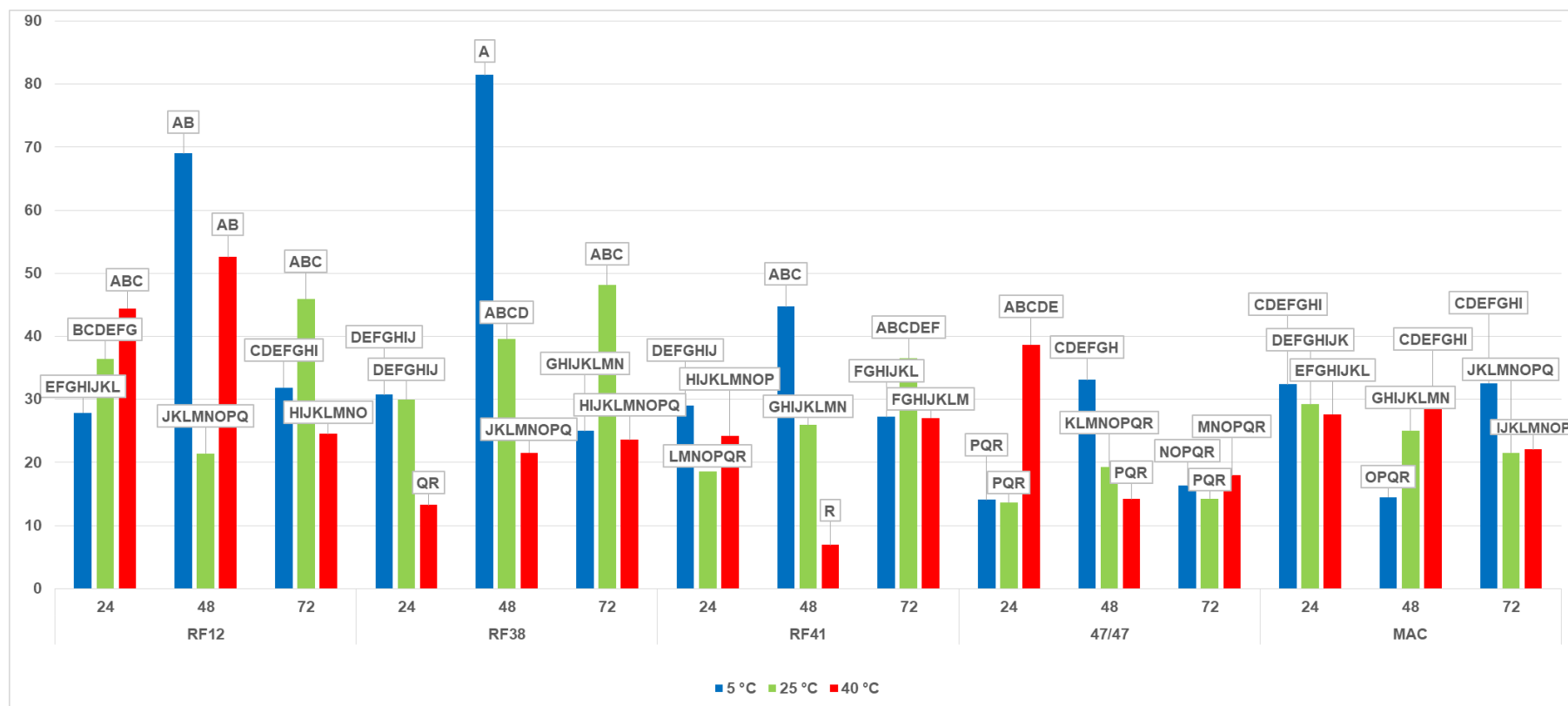


Figura 9. Efecto de la temperatura y el tiempo de exposición sobre germinación del grano de polen (PGP) de tomate en cultivo *in vivo*, en diferentes genotipos; cifras con la misma letra no difieren en forma significativa ($\alpha \leq 0.05$).

4.3.2 Viabilidad del polen

En el Cuadro 4A se presentan las comparaciones de medias de rangos para porcentaje de viabilidad (PVIA). En 5 °C, RF1 presentó los mayores porcentajes de viabilidad durante los tres tiempos de exposición (Figura 9A), con valores superiores a 60 % y ubicados en los primeros grupos de mayor significancia. En contraste, Macizo y 47/47 presentaron los menores porcentajes de viabilidad, con valores menores que 20 %.

La viabilidad presentó menor variación que PGP y LTP, lo que indica mayor estabilidad. Sin embargo, valores altos de PVIA no se reflejaron en mayor germinación o elongación, lo que confirma que la viabilidad no garantiza funcionalidad del polen bajo estrés térmico.

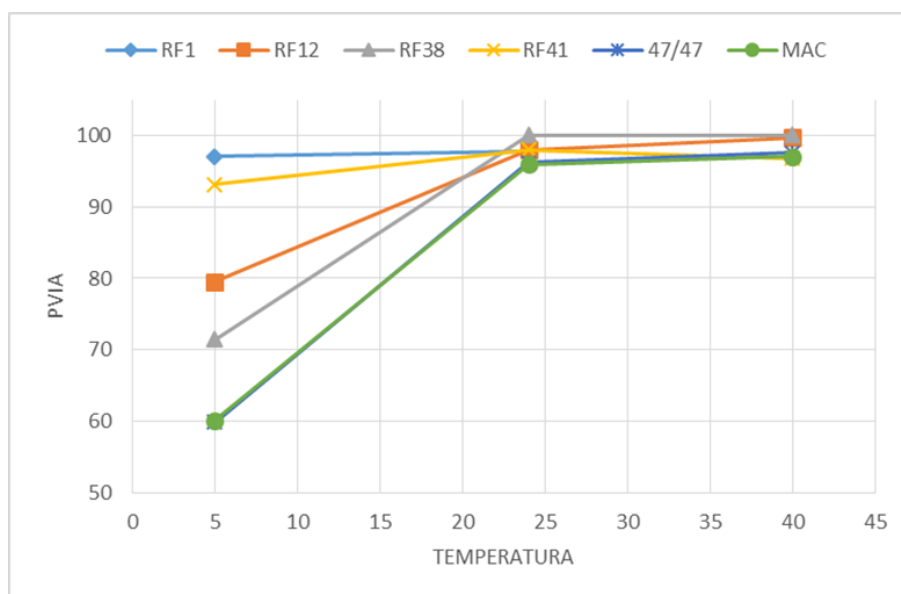


Figura 10. Porcentaje de viabilidad de los granos de polen de tomate expuestos durante 48 h a 5, 25 y 40 °C.

4.3.3 Efecto de la temperatura sobre la viabilidad del polen

Con base en el Cuadro 4A y la Figura 10, los mayores porcentajes de viabilidad se registraron en 25 y 40 °C, donde RF38 presentó 100 % de viabilidad en 25 °C y se ubicó en el grupo C, sin diferencias estadísticas respecto a RF12, 47/47 y Macizo, cuyos valores fueron superiores a 95 %. En contraste, en 5 °C se registraron los menores porcentajes de viabilidad, donde 47/47 y Macizo presentaron valores cercanos a 60 % y se ubicaron en los grupos estadísticos inferiores.

RF1 presentó valores de viabilidad superiores a 97 % en las tres temperaturas evaluadas, RF12 y RF38 mostraron un incremento de viabilidad conforme aumentó la temperatura. Resultados similares fueron reportados por Hedhly et al. (2011), quienes señalaron que temperaturas bajas redujeron la viabilidad del polen debido a alteraciones metabólicas y daño en membranas celulares.

4.3.4 Efecto del tiempo de exposición sobre la viabilidad del polen

Con base en el Cuadro 4A y la Figura 11, RF1 presentó porcentajes de viabilidad superiores a 97 % en las tres temperaturas evaluadas, sin diferencias estadísticas entre 5, 25 y 40 °C. RF12 y RF38 presentaron los menores valores de viabilidad en 5 °C (79 y 71 %, respectivamente), ubicándose en los grupos C y F, mientras que en 25 y 40 °C alcanzaron valores cercanos a 100 % y se ubicaron en los primeros grupos de significancia. RF41 mantuvo porcentajes de viabilidad superiores a 93 % en las tres temperaturas evaluadas, sin diferencias estadísticas entre 25 y 40 °C. En contraste, 47/47 y Macizo presentaron los menores porcentajes de viabilidad en 5 °C, con valores cercanos a 60 % y ubicados en los grupos AB y F, respectivamente.

Jansma et al. (2022) señalaron que los genotipos tolerantes mantuvieron mayor viabilidad del polen bajo estrés térmico debido a una mejor regulación antioxidante y estabilidad metabólica.

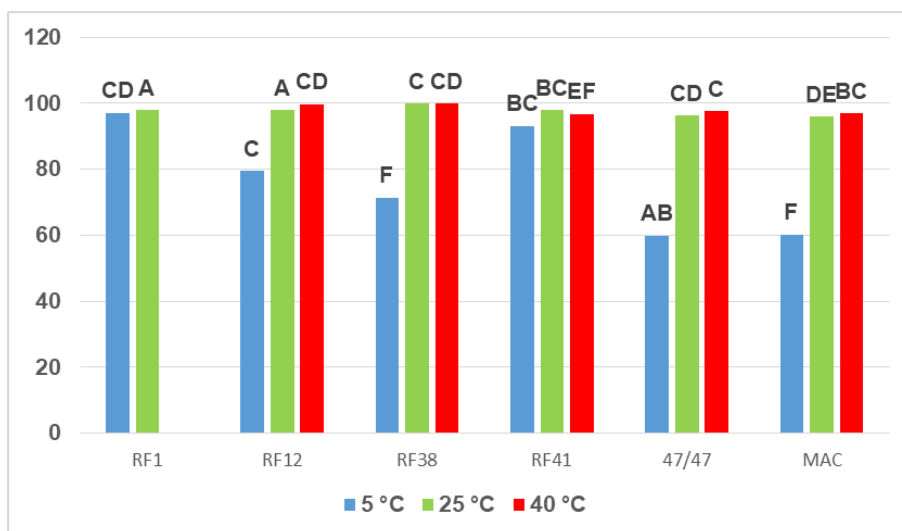


Figura 11. Efecto de la temperatura sobre la viabilidad del grano de polen de tomate (PGP), en diferentes genotipos; cifras con la misma letra no difieren en forma significativa ($\alpha \leq 0.05$).

Las técnicas utilizadas permitieron detectar variaciones del comportamiento de los genotipos ante temperaturas extremas (5 y 40 °C), por lo que pueden ser empleadas para la selección de materiales tolerantes a estrés térmico.

La longitud del tubo polínico (LTP) fue altamente sensible a temperaturas extremas como se observó en el Cuadro 4A y Figuras 10 y 11. Además no se detectaron asociaciones entre este carácter y la germinación y viabilidad del grano de polen.

El grano de polen puede poseer alta viabilidad y, pese a ello, tener baja capacidad de germinación, así como presentar una disminución en el alargamiento del tubo polínico. Por lo tanto, no se puede definir la tolerancia solo con la viabilidad (PVIA), sino que requiere la relación de la germinación (PGP) y la longitud del tubo (LTP). Esta forma de interpretación coincide con lo planteado por Zinn et al. (2010), quienes señalaron que la fase reproductiva es una de las más vulnerables al estrés térmico, en especial en los procesos posteriores a la formación del polen.

De acuerdo con lo descrito en la revisión, los resultados confirman que el polen es un tejido con alta sensibilidad al cambio de temperaturas. Mientras que a 25 °C se favoreció el desempeño, los extremos de 5 °C y 40 °C limitaron la respuesta de los granos de polen sobre su capacidad de germinación. El frío redujo drásticamente la viabilidad en algunos genotipos, lo que sugiere daños en la integridad celular. El calor no siempre afectó la viabilidad del polen, pero sí inhibió la germinación y la elongación del tubo polínico. Esta diferencia resultó importante porque demuestra que el polen puede permanecer “vivo”, pero no necesariamente mantener su condición reproductiva, de acuerdo con lo reportado por Sato et al. (2000) sobre cómo el estrés térmico limita el cuajado de fruto mediante efectos sobre el polen y la reproducción en este cultivo.

El hallazgo más importante en los resultados es que la variable LTP fue el indicador más sensible. Lo que en fisiología tiene lógica, ya que el crecimiento del tubo polínico exige una alta organización celular y energía transporte vesicular, síntesis de pared y equilibrio osmótico; cualquier alteración térmica puede frenar este proceso antes de que el polen deje de ser viable y muera. El experimento estableció que la viabilidad por sí sola puede sobreestimar la capacidad reproductiva real, mientras que el análisis en conjunto de

PVIA, PGP, PGER y LTP ofrece una evaluación mucho más completa del desarrollo del polen bajo condiciones de estrés térmico.

Se infiere que los genotipos no fueron totalmente tolerantes, sino materiales con una adaptación relativamente superior. Esto concuerda con estudios de Bollier et al. (2023) y Jansma et al. (2022), quienes describieron respuestas contrastantes entre cultivares de tomate debido a mecanismos fisiológicos y metabólicos internos.

La utilidad práctica de esta investigación radica principalmente para el sector semillero, los resultados fungen como un primer filtro para la identificación de genotipos resistentes antes de realizar ensayos de campo con costos más elevados. Además de que, para los programas de mejoramiento y el sector público, la investigación aporta algunos criterios para la selección de materiales que podrían adaptarse a las temperaturas extremas y. El estudio indico la teoría de la alta sensibilidad reproductiva al estrés térmico.

La funcionalidad del polen es un indicador clave. Por lo que el siguiente paso pudiera ser, identificar y comprobar los genotipos con mayor tolerancia con mediciones de cuajado, semillas por fruto y rendimiento. Además de incorporar variables ambientales adicionales, especialmente humedad relativa, déficit de presión de vapor y temperatura nocturna. Estos factores pueden modificar la hidratación del polen y la receptividad del estigma. Por último, añadir metodologías fisiológicas y moleculares: tinción diferencial FDA/PI, actividad antioxidante, contenido de carbohidratos en anteras y polen, expresión de genes HSF/HSP, marcadores de estrés oxidativo y análisis hormonal. Estas variables permitirían explicar por qué algunos genotipos conservan funcionalidad bajo estrés y otros no.

5 CONCLUSIONES

Fue posible establecer dos técnicas para determinar la tolerancia a temperaturas extremas mediante la manipulación de polen en plantas de tomate, que permitieron discriminar tres líneas (RF1, RF12 y RF38) de tomate con mayor tolerancia tanto a bajas como a altas temperaturas; de tres con susceptibilidad a estas condiciones (RF41, 47/47 y Macizo).

La primera técnica consistió en exponer al grano de polen a temperaturas extremas (5 y 40 °C), en medio de cultivo especial para promover su germinación, lo cual permitió cuantificar el porcentaje de germinación del grano de polen y la longitud del tubo polínico; este último carácter fue el más sensible a temperaturas extremas.

La segunda técnica consistió en exponer los granos de polen de tomate a temperaturas extremas por 48 h y realizar la polinización *in vivo*; posteriormente, se obtuvieron muestras de pistilo cada 24 h por tres días, lo que permitió cuantificar el porcentaje de germinación en el estilo y relacionarla con el porcentaje de viabilidad.

Ambas metodologías permitieron identificar genotipos con mayor tolerancia al estrés térmico, útil para programas de mejoramiento.

6 Literatura Citada

- Allen, D. J., & Ort, D. R. (2001). Impacts of chilling temperatures on photosynthesis in warm-climate plants. *Trends in Plant Science*, 6(1), 36–42.
[https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(00\)01808-2](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(00)01808-2)
- Ascari, L., Giorgetti, L., Locato, V., Geri, C., De Gara, L., & Lorenzi, R. (2020). Quantitative microscopy methods to evaluate pollen viability in plants. *Plant Reproduction*, 33, 205–219.
<https://doi.org/10.1007/s00497-020-00398-6>
- Bitá, C. E., & Gerats, T. (2013). Plant tolerance to high temperature in a changing environment. *Frontiers in Plant Science*, 4, Article 273.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00273>
- Bollier, N., Micol-Ponce, R., Chervin, C., Hamant, O., Ponce, M. R., & Damerval, C. (2023). Various tomato cultivars display contrasting morphological and molecular responses to chronic heat stress. *Frontiers in Plant Science*, 14, Article 1278608.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1278608>
- Brewbaker, J. L., & Kwack, B. H. (1963). The essential role of calcium ion in pollen germination and pollen tube growth. *American Journal of Botany*, 50(9), 859–865.
<https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1963.tb06564.x>
- Cardone, S., Pérez Camargo, G., & Picca, A. (2010). Polinización y fertilización in vitro. In G. Levitus, V. Echenique, C. Rubinstein, E. Hopp, & L. Mroginski (Eds.), *Biotechnología y mejoramiento vegetal II* (pp. 183–196). Ediciones INTA.
- CFEA Guísamo. (2019). *Centro de Formación e Experimentación Agroforestal de Guísamo*. Obtenido de <https://www.cfeaguisamo.org/wp-19/documentos/PPMR/201906/VVAA/7.5.%20Polinizaci%C3%B3n.pdf>
- Contreras-Magaña, E., Alpuche-Solís, Á. G., Pérez-Grajales, M., Damián-Nava, A., Colinas-León, M. T., & Peña-Lomelí, A. (2013). Caracterización morfológica de la diferenciación floral en tomate (*Solanum lycopersicum* L.). *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 19(1), 59–70.
- Dirección General de Comunicación Social [DGCS-UNAM]. (2025, mayo 12). México se calienta más que el promedio del planeta. *Gaceta UNAM*. <https://www.gaceta.unam.mx/mexico-se-calienta-mas-que-el-promedio-del-planeta/>
- Dresselhaus, T., Sprunck, S., & Wessel, G. M. (2016). Fertilization mechanisms in flowering plants. *Current Biology*, 26(3), R125–R139.
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.12.032>
- Food and Agriculture Organization. (2011). *FAOSTAT database*. <http://faostat.fao.org>
- Foolad, M. R. (2007). Genome mapping and molecular breeding of tomato. *International Journal of Plant Genomics*, 2007, Article 64358.
<https://doi.org/10.1155/2007/64358>
- Fragkostefanakis, S., Mesihovic, A., Simm, S., Paupière, M. J., Hu, Y., Paul, P., Mishra, S. K., Tschiersch, B., Theres, K., Bovy, A., Schleiff, E., & Scharf, K. D. (2016). HsfA2

- controls the activity of developmentally and stress-regulated heat stress protection mechanisms in tomato male reproductive tissues. *Plant Physiology*, 170(4), 2461–2477.
<https://doi.org/10.1104/pp.15.01913>
- Giorno, F., Wolters-Arts, M., Mariani, C., & Rieu, I. (2010). Ensuring correct protein folding during tomato anther development relies on the anther-specific small heat-shock protein SIHsp17.4-CII. *Plant Physiology*, 153(2), 705–713.
<https://doi.org/10.1104/pp.110.157131>
- Hedhly, A. (2011). Sensitivity of flowering plant gametophytes to temperature fluctuations. *Environmental and Experimental Botany*, 74, 9–16.
<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2011.03.016>
- Heslop-Harrison, J., & Heslop-Harrison, Y. (1970). Evaluation of pollen viability by enzymatically induced fluorescence. *Stain Technology*, 45(3), 115–120.
<https://doi.org/10.3109/10520297009085351>
- Hoshikawa, K., Fujita, S., Renhu, N., Ezura, H., & Miura, K. (2021). Genetic and molecular mechanisms conferring heat stress tolerance in tomato plants. *Frontiers in Plant Science*, 12, Article 786688.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2021.786688>
- Jansma, S. Y., Sergeeva, L. I., Tikunov, Y. M., Kohlen, W., Ligterink, W., & Rieu, I. (2022). Low salicylic acid level improves pollen development under long-term mild heat conditions in tomato. *Frontiers in Plant Science*, 13, Article 828743.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2022.828743>
- Liu, J., Feng, L., Li, J., & He, Z. (2012). The effect of cold stress on the expression of glutathione reductase gene family in tomato. *Molecular Biology Reports*, 39(2), 1591–1600.
<https://doi.org/10.1007/s11033-011-0888-4>
- Martínez, P. F. (2001). *Cultivo del tomate en invernadero frío*. Agencia Española de Cooperación Internacional.
- Müller, F., Xu, J., Kristensen, L., Wolters-Arts, M., de Groot, P. F., Jansma, S. Y., Mariani, C., & Rieu, I. (2016). High-temperature-induced defects in tomato anther and pollen development are associated with reduced expression of B-class floral patterning genes. *PLOS ONE*, 11(12), Article e0167614.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0167614>
- Pan, C. T., Yang, Y., & Zhang, Y. (2017). The bZIP gene family in tomato: Genome-wide identification and expression analysis under abiotic stresses. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 493(1), 220–227.
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.09.023>
- Peralta, I. E., Spooner, D. M., & Knapp, S. (2008). *Taxonomy of wild tomatoes and their relatives*. American Society of Plant Taxonomists.
- Pressman, E., Peet, M. M., & Pharr, D. M. (2002). The effect of heat stress on tomato pollen characteristics. *Annals of Botany*, 90(5), 631–636.
<https://doi.org/10.1093/aob/mcf240>

- Ramírez-Estrada, K., et al. (2017). Sterol glycosyltransferases in tomato. *Frontiers in Plant Science*, 8, Article 1422.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01422>
- Rejón, J. D., Suárez, C. G., & Castro, A. J. (2010). Evaluación de diferentes métodos para estimar la calidad del polen. *Acta Horticultura*, (949), 1–6.
- Rieu, I., Twell, D., & Firon, N. (2017). Pollen development at high temperature. *Plant Physiology*, 173(1), 196–208.
<https://doi.org/10.1104/pp.16.01644>
- Sato, S., Peet, M. M., & Thomas, J. F. (2000). Physiological factors limit fruit set of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) under chronic, mild heat stress. *Plant, Cell & Environment*, 23(7), 719–726.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2000.00589>
- Serafini-Fracassini, D., & Del Duca, S. (2008). Transglutaminases: Widespread cross-linking enzymes in plants. *Annals of Botany*, 102(2), 145–152.
<https://doi.org/10.1093/aob/mcn075>
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2025). *Panorama agroalimentario del jitomate*. Gobierno de México.
- Singh, A. K., Sharma, L., Kumar, S., & Tiwari, A. (2022). Molecular insights into mechanisms underlying thermo-tolerance in tomato. *Frontiers in Plant Science*, 13, Article 1040532. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1040532>
- Thompson, A. J., Jackson, A. C., Parker, R. A., Morpeth, D. R., Burbidge, A., & Taylor, I. B. (2000). Regulation of abscisic acid biosynthesis in tomato. *Plant Molecular Biology*, 42(6), 833–845.
<https://doi.org/10.1023/A:1006404429390>
- Tokić, M., Leljak Levanić, D., Ludwig-Müller, J., & Bauer, N. (2023). Growth and molecular responses of tomato to prolonged and short-term heat exposure. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(5), Article 4456.
<https://doi.org/10.3390/ijms24054456>
- Zhang, X., Fowler, S. G., Cheng, H., Lou, Y., Rhee, S. Y., Stockinger, E. J., & Thomashow, M. F. (2004). Freezing-sensitive tomato has a functional CBF pathway. *The Plant Journal*, 39(6), 905–919.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2004.02176>
- Zinn, K. E., Tunc-Ozdemir, M., & Harper, J. F. (2010). Temperature stress and plant sexual reproduction. *Journal of Experimental Botany*, 61(7), 1959–1968.
<https://doi.org/10.1093/jxb/erq053>

7 ANEXOS

Cuadro 1A. Comparación de medias de rangos del porcentaje de germinación del polen de tomate (PGER) expuesto a temperaturas de 5, 25 y 40 °C durante 6, 12 y 24 h, en cultivo *in vitro*.

TRA	GEN	T	H	PGER	RM	Grupo
1	RF1	5	6	79.7	1052.58	A
2	RF1	5	12	45.8	789.98	FG
3	RF1	5	24	50.92	875.18	DE
4	RF12	5	6	40.14	685.23	HI
5	RF12	5	12	65.09	967.85	BC
6	RF12	5	24	33.15	633.35	I
7	RF38	5	6	46.32	815.98	EF
8	RF38	5	12	27.56	550.63	JK
9	RF38	5	24	24.14	499.95	KL
10	RF41	5	6	9.5	270.93	PQR
11	RF41	5	12	9.25	257	ORS
12	RF41	5	24	2.71	143.63	TUVWX
13	47/47	5	6	1.54	104.9	VWXY
14	47/47	5	12	1.36	87.15	WXY
15	47/47	5	24	3.51	155.28	TUVW
16	MAC	5	6	0.48	69.05	XY
17	MAC	5	12	0.99	87.63	WXY
18	MAC	5	24	6.21	190.98	RSTU
19	RF1	25	6	54.33	904.93	CD
20	RF1	25	12	44.12	784.68	FG
21	RF1	25	24	45.33	813.98	EFG
22	RF12	25	6	51.28	880.48	DE
23	RF12	25	12	42.56	771.98	FG
24	RF12	25	24	46.11	813.93	EFG
25	RF38	25	6	35.47	665.63	HI
26	RF38	25	12	33.81	640	I
27	RF38	25	24	35.01	659.48	HI
28	RF41	25	6	34.57	643.03	I
29	RF41	25	12	21.06	449.48	LM
30	RF41	25	24	24.95	511.43	KL
31	47/47	25	6	18.78	418.6	MNO
32	47/47	25	12	13.92	344.3	OP
33	47/47	25	24	20.58	443.13	LMN
34	MAC	25	6	31.56	609.65	IJ
35	MAC	25	12	35.44	665.6	HI
36	MAC	25	24	37.24	677.35	HI
37	RF1	40	6	51.69	874.95	DE
38	RF1	40	12	34.35	649.68	I
39	RF1	40	24	64.32	993.3	AB
40	RF12	40	6	53.69	911.68	CD
41	RF12	40	12	0	53	Y
42	RF12	40	24	49.37	849.93	DEF
43	RF38	40	6	40.13	734.73	GH
44	RF38	40	12	24.49	504.93	KL
45	RF38	40	24	52.66	875.9	DE
46	RF41	40	6	21.89	465.58	LM
47	RF41	40	12	12.31	320.18	PQ
48	RF41	40	24	25.12	514.55	KL
49	47/47	40	6	8.74	254.65	ORS
50	47/47	40	12	11.27	296.73	PQ
51	47/47	40	24	4.93	183	STUV
52	MAC	40	6	5.78	203.78	RST
53	MAC	40	12	20.2	443.2	LM
54	MAC	40	24	2.35	122.45	UVWXY

TRA: Tratamiento; GEN: genotipo; T: temperatura; H: hora; PGER: porcentaje de germinación; RM: medias de rangos, cifras con la misma letra no difieren en forma significativa ($\alpha \leq 0.05$)

Cuadro 2A. Comparación de medias de rangos de la longitud del tubo polínico (LTP) de los granos de polen de tomate expuesto a temperaturas de 5, 25 y 40 °C durante 6, 12 y 24 h, en cultivo *in vitro*.

TRA	GEN	T	H	RM	LTP	GRUPO
1	RF1	5	6	336	0.00375	E
2	RF12	5	6	315	0.0036	EF
3	RF38	5	6	254	0.00275	FGH
4	RF41	5	6	153	0.00182353	JK
8	RF1	5	12	294	0.0036	EFG
9	RF12	5	12	335	0.0039	EF
10	RF38	5	12	207	0.00238889	HIJ
11	RF41	5	12	335	0.00433333	EF
14	MAC	5	12	55	0.001	K
15	RF1	5	24	327	0.004	EF
16	RF12	5	24	322	0.00415	EF
17	RF38	5	24	264	0.00327778	FGH
18	RF41	5	24	293	0.00372222	EFG
20	47/47	5	24	336	0.00375	EF
21	MAC	5	24	234	0.00275	GHIJ
22	RF1	25	6	654	0.055	ABCD
23	RF12	25	6	712	0.06595	AB
24	RF38	25	6	714	0.0649	A
25	RF41	25	6	697	0.06325	AB
27	47/47	25	6	676	0.0597	ABCD
28	MAC	25	6	691	0.063	ABC
29	RF1	25	12	646	0.05445	BCD
30	RF12	25	12	679	0.05985	ABCD
31	RF38	25	12	656	0.0562	ABCD
32	RF41	25	12	679	0.06085	ABCD
34	47/47	25	12	654	0.0556	ABCD
35	MAC	25	12	665	0.05665	ABCD
36	RF1	25	24	626	0.05315	CD
37	RF12	25	24	663	0.05815	ABCD
38	RF38	25	24	628	0.0531	CD
39	RF41	25	24	659	0.0594	ABCD
41	47/47	25	24	646	0.0557	BCD
42	MAC	25	24	616	0.05045	D
43	RF1	40	6	264	0.003	FGH
44	RF12	40	6	246	0.00265	GHI
45	RF38	40	6	279	0.00315	EFG
46	RF41	40	6	178	0.00205263	IJ
48	47/47	40	6	75	0.00116667	K
49	MAC	40	6	55	0.001	K
50	RF1	40	12	110	0.00149378	K
52	RF38	40	12	79	0.00135294	K
53	RF41	40	12	55	0.001	K
56	MAC	40	12	90	0.00129412	K
57	RF1	40	24	254	0.003	FGH
58	RF12	40	24	280	0.0031	EFG
59	RF38	40	24	271	0.003	EFGH
60	RF41	40	24	275	0.00305	EFGH
62	47/47	40	24	82	0.00122222	K
63	MAC	40	24	55	0.001	K

TRA: Tratamiento; **GEN:** genotipo; **T:** temperatura; **H:** hora; **LTP:** longitud del tubo polínico; **RM:** medias de rangos, cifras con la misma letra no difieren en forma significativa ($\alpha \leq 0.05$).

Cuadro 3A. Comparación de medias de rangos para el porcentaje de germinación de polen (PGP) de tomate expuesto a temperaturas de 5, 25 y 40 °C durante 6, 12 y 24 h, en cultivo *in vivo*.

TRA	GEN	T	H	RM	PGP	GRUPO
1	RF12	40	24	116.33	44	ABC
2	RF38	40	24	17	13	QR
3	RF41	40	24	56	24	HIJKLMNQP
4	47/47	40	24	105.67	39	ABCDE
5	MAC	40	24	69	28	EFGHIJKL
6	RF12	40	48	125.67	53	AB
7	RF38	40	48	46.33	22	JKLMNOPQ
8	RF41	40	48	5.33	7	R
9	47/47	40	48	20	14	PQR
10	MAC	40	48	85.67	32	CDEFGHI
11	RF12	40	72	57.67	25	HIJKLMNO
12	RF38	40	72	53	24	HIJKLMNQP
13	RF41	40	72	66.33	27	FGHIJKLM
14	47/47	40	72	30	18	MNOPQR
15	MAC	40	72	49.67	22	IJKLMNOPQ
16	RF12	25	24	94.67	36	BCDEFG
17	RF38	25	24	75	30	DEFGHIJ
18	RF41	25	24	34	19	LMNOPQR
19	47/47	25	24	20.33	14	PQR
20	MAC	25	24	71.67	29	DEFGHIJK
21	RF12	25	48	46.33	21	JKLMNOPQ
22	RF38	25	48	107.67	40	ABCD
23	RF41	25	48	63.33	26	GHIJKLMN
24	47/47	25	48	36.67	19	KLMNOPQR
25	MAC	25	48	60.33	25	GHIJKLMN
26	RF12	25	72	119	46	ABC
27	RF38	25	72	116.67	48	ABC
28	RF41	25	72	100.67	37	ABCDEF
29	47/47	25	72	19.67	14	PQR
30	MAC	25	72	44.33	22	JKLMNOPQ
31	RF12	5	24	70.33	28	EFGHIJKL
32	RF38	5	24	78.33	31	DEFGHIJ
33	RF41	5	24	74.33	29	DEFGHIJ
34	47/47	5	24	20.67	14	PQR
35	MAC	5	24	85.33	32	CDEFGHI
36	RF12	5	48	129.33	69	AB
37	RF38	5	48	133	81	A
38	RF41	5	48	115.67	45	ABC
39	47/47	5	48	88.67	33	CDEFGH
40	MAC	5	48	21	14	OPQR
41	RF12	5	72	85.33	32	CDEFGHI
42	RF38	5	72	60.67	25	GHIJKLMN
43	RF41	5	72	68.67	27	FGHIJKL
44	47/47	5	72	28.67	16	NOPQR
45	MAC	5	72	86	33	CDEFGHI

TRA: Tratamiento; **GEN:** genotipo; **T:** temperatura; **H:** hora; **PGP:** porcentaje de germinación de granos de polen; **RM:** medias de rangos, cifras con la misma letra no difieren en forma significativa ($\alpha \leq 0.05$).

Cuadro 4A. Comparación de medias del porcentaje de viabilidad (PVI) de los granos de polen de tomate expuesto a temperaturas de 5, 25 y 40 °C durante 48 h, en cultivo *in vitro*.

TRA	GEN	T	RM	PVIA	GRUPO
1	1	24	76.88	97.847	A
2	2	24	79.06	98.017	A
3	3	24	111.5	100	C
4	4	24	79.44	98.03	BC
5	5	24	57.5	96.189	CD
6	6	24	77.56	95.947	DE
7	2	40	106.31	99.716	CD
8	3	40	111.5	100	CD
9	4	40	61.63	96.818	EF
10	5	40	66.63	97.524	C
11	6	40	78.38	97.017	BC
12	1	5	68.69	97.072	CD
13	2	5	17.69	79.545	C
14	3	5	19.63	71.433	F
15	4	5	76.5	93.144	BC
16	5	5	48.31	59.873	AB
17	6	5	27.31	60.178	F

TRA: Tratamiento; GEN: genotipo; T: temperatura; PGP: porcentaje de viabilidad; RM: medias de rangos, cifras con la misma letra no difieren en forma significativa ($\alpha \leq 0.05$).