

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA

INSTITUTO DE HORTICULTURA

**HETEROSIS INTERVARIETAL ENTRE CLONES
DE TOMATE DE CÁSCARA (*Physalis ixocarpa*
Brot.)**



T E S I S

DIRECCION GENERAL ACADEMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES

QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

P R E S E N T A:

MIGUEL ANGEL ARREOLA SÁNCHEZ

Chapingo, Edo. de México. junio de 2005



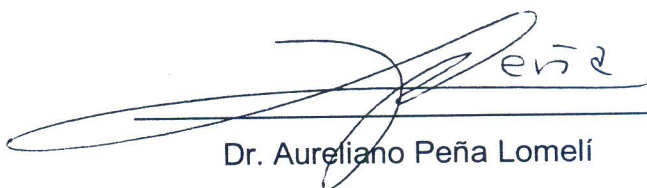
Instituto de Horticultura

HETEROSIS INTERVARIETAL ENTRE CLONES DE TOMATE DE CÁSCARA (*Physalis ixocarpa* Brot.)

Tesis realizada por ARREOLA SÁNCHEZ MIGUEL ANGEL bajo la dirección del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

DIRECTOR



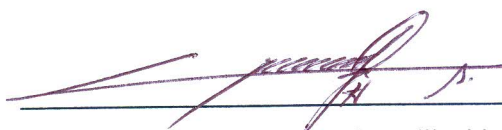
Dr. Aureliano Peña Lomelí

ASESOR



Ph D. Jaime Sahagún Castellanos

ASESOR



Dr. José Francisco Santiaguillo Hernández

ASESOR



M.C. Alejandro Manzo González

Chapingo, México. 10 de junio de 2005.

DEDICATORIA

A **Dios**, por fortalecer mi alma y espíritu para lograr todos los objetivos y metas propuestas en mi vida.

A mis padres, **Miguel Arreola Calderón y Luisa Sánchez García** por el apoyo incondicional que me brindan, por inculcar con el ejemplo todos los preceptos requeridos para triunfar en la vida.

A mis hermanos, **Roberto y Jorge** y sus respectivas esposas (**Rosy y Katia**) por su afecto, amistad y por ser parte de mi vida, pues me brindan la energía necesaria para alcanzar todas mis metas propuestas.

A mis sobrinos **Katia Elizabeth y Miguel Alberto** por inyectar de energía y llenar de alegría nuestra familia, los quiero.

A **Maria Luisa Hernández Alonso** por soportar todas las vicisitudes y tropiezos que la vida nos impuso y a pesar de todo seguir a mi lado, **T.Q.M.**

Al **Dr. Aureliano Peña Lomelí** por su amistad y ayuda en todos los sentidos.

A todos mis **amigos** de la maestría generación 2003-2004 y todas aquellas grandes personas que enriquecieron y llenaron de gozo mi estadía en la Universidad.

A todos los aquí mencionados, les dedico este documento. Lo considero digno de todos ustedes por el empeño y dedicación que en él impuse. Por lo pronto es una pequeña forma de retribuirles todo lo que me brindaron.

AGRADECIMIENTOS

A la **Universidad Autónoma Chapingo**, por todo los servicios prestados.

A todos los que forman parte de la Maestría en Ciencias en Horticultura del Departamento de Fitotecnia.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)**, mismo que auspicio todos los gastos sufragados para la culminación de mis estudios.

Al **Dr. Aureliano Peña Lomelí** titular de la presenta tesis, así como al comité de tesis conformado por: **PhD. Jaime Sahagún Castellanos; Dr. José Francisco Santiaguillo Hernández; M.C. Alejandro Manzo González.**

Por el tiempo que destinaron a este trabajo, por que gracias a su experiencia vertieron sugerencias que enriquecieron dicho documento, a su comprensión y paciencia para que todo culminara de manera satisfactoria. Y lo más importante por su amistad.

A todo el personal que labora en el **Laboratorio Cultivo de Tejidos Vegetales** del Departamento de Fitotecnia y el personal de campo, especialmente a **Don Gabriel y Don Eusebio**, por su gentileza y por todas las facilidades otorgadas, así como por compartir su experiencia.

A todos los que formaron parte de mi vida en estos dos años y que resultaría interminable nombrarlos, además de que siempre se puede quedar uno en la memoria y sería injusto no mencionarlo. Sin embargo, bien saben que todos ustedes van incluidos en este párrafo y lo más importante siempre estarán en mi mente y en mi corazón. A todos ustedes les deseo lo mejor.

¡Gracias!

Miguel Angel Arreola-Sánchez

DATOS BIOGRÁFICOS

El autor del presente trabajo, Ingeniero Agrónomo en sistemas alternativos de producción agrícola, es originario de México D. F. Realizó estudios superiores en el Instituto Tecnológico Agropecuario No 33, ubicado en la comunidad de Roque, perteneciente al municipio de Celaya, Gto.

Después de egresado laboró en la empresa de Mar Bran S.A de C.V. como ingeniero de producción en campo. Posteriormente fue aceptado en la consultaría denominada Red de Ingeniería S.A. de C.V. dedicada a realizar evaluaciones de los programas federales de apoyo al sector agropecuario “ALIANZA PARA EL CAMPO” En el 2003 fue aceptado para cursar la Maestría en Ciencias en Horticultura en el Instituto de Horticultura de la Universidad Autónoma Chapingo.

CONTENIDO

	ÍNDICE DE CUADROS.....	IV
	ÍNDICE DE FIGURAS.....	VI
	RESUMEN GENERAL.....	VII
	GENERAL ABSTRACT.....	XI
1	INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
2	MICROPROPAGACIÓN DE DIEZ MATERIALES DE TOMATE DE CÁSCARA (<i>Physalis ixocarpa</i> Brot.).....	4
2.1	RESUMEN.....	4
2.2	ABSTRACT.....	6
2.3	INTRODUCCIÓN.....	7
2.4	REVISIÓN DE LITERATURA.....	9
2.4.1	Aspectos generales e importancia del tomate de cáscara.....	9
2.4.2	Citogenética.....	10
2.4.3	Propagación del tomate de cáscara.....	10
2.4.4	Micropropagación.....	12
2.4.4.1	Métodos de propagación <i>in vitro</i>	13
2.4.4.2	Fases de la propagación <i>in vitro</i>	16
2.4.4.3	Factores que influyen en la micropagación <i>in vitro</i>	18
2.4.4.4	Cambios cromosómicos en la micropropagación.....	21
2.4.4.5	Micropropagación en tomate de cáscara.....	22
2.5	MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
2.5.1	Material biológico.....	25

2.5.2	Medios de cultivo.....	26
2.5.3	Condiciones de incubación.....	28
2.5.4	Incremento del material vegetal.....	28
2.6	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	29
2.6.1	Incremento <i>in vitro</i> de los diez clones de tomate de cáscara.....	29
2.7	CONCLUSIONES.....	34
2.8	LITERATURA CITADA.....	35
3	ACLIATIZACIÓN Y CULTIVO EN CONDICIONES DE INVERNADERO DE CLONES DE TOMATE DE CÁSCARA (<i>Physalis ixocarpa</i> Brot.) MICROPROPAGADOS <i>in vitro</i> Y OBTENCIÓN DE SEMILLA.....	39
3.1	RESUMEN.....	39
3.2	ABSTRACT.....	41
3.3	INTRODUCCIÓN.....	42
3.4	REVISIÓN DE LITERATURA.....	45
3.4.1	Micropropagación.....	45
3.4.2	Fase IV. Aclimatización de plantas micropropagadas.....	46
3.4.3	Factores que intervienen en la fase de acondicionamiento de plantas micropropagadas.....	50
3.4.4	Biología floral y polinización en tomate de cáscara.....	51
3.5	MATERIALES Y MÉTODOS.....	53
3.5.1	Proceso de adaptación en invernadero.....	53
3.5.2	Proceso de extracción de semilla de los híbridos interclonales.....	54

3.6	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	56
3.7	CONCLUSIONES.....	63
3.8	LITERATURA CITADA.....	64
4	HETEROSIS INTERVARIETAL ENTRE CLONES DE TOMATE DE CÁSCARA (<i>Physalis ixocarpa</i> Brot.).....	66
4.1	RESUMEN.....	66
4.2	ABSTRACT.....	68
4.3	INTRODUCCIÓN.....	70
4.4	REVISIÓN DE LITERATURA.....	72
4.4.1	Clasificación taxonómica, morfología y fisiología.....	72
4.4.2	Heterosis en tomate de cáscara.....	74
4.4.3	Comentarios sobre la estrategia.....	78
4.4.4	Variedades o materiales de tomate de cáscara.....	79
4.4.5	Mejoramiento genético de tomate de cáscara.....	80
4.5	MATERIALES Y MÉTODOS.....	83
4.6	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	88
4.6.1	En campo con acolchado.....	88
4.6.2	Invernadero.....	95
4.6.2.1	Análisis a los 7 DDT.....	96
4.6.2.2	Análisis a los 30 DDT.....	99
4.7	CONCLUSIONES.....	103
4.8	LITERATURA CITADA.....	104
5	ANEXOS.....	108

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 2.5.1	Descripción del material vegetal micropropagado.....	26
Cuadro 2.5.2	Componentes del medio de cultivo de Murashige y Skoog (MS).....	27
Cuadro 2.6.1	Tasa de multiplicación y crecimiento de diez clones de tomate de cáscara.....	29
Cuadro 2.6.2	Cuadrados medios del análisis de varianza para longitud de tallo (LT), diámetro de tallo (DT) y número de yemas (NY) en diez clones de tomate de cáscara micropropagados.....	30
Cuadro 2.6.3	Medias para tres caracteres de 10 clones micropropagados <i>in vitro</i> de tomate de cáscara.....	31
Cuadro 3.6.1	Sobreviviencia, contaminación y plantas sin respuesta al proceso de adaptación de los diez clones incrementados <i>in vitro</i> (16 de agosto de 2003).....	56
Cuadro 3.6.2	Sobreviviencia, contaminación y plantas sin respuesta al proceso de adaptación de los diez clones incrementados <i>in vitro</i> (23 de agosto de 2003).....	57
Cuadro 3.6.3	Sobreviviencia, contaminación y plantas sin respuesta al proceso de adaptación de los diez clones incrementados <i>in vitro</i> (19 de febrero de 2004).....	57
Cuadro 3.6.4	Sobreviviencia, contaminación y plantas sin respuesta al proceso de adaptación de los diez clones incrementados	58

	<i>in vitro</i> (12 de marzo de 2004).....	
Cuadro 3.6.5	Cuadrados Medios de plantas sobrevivientes en el proceso de aclimatización de materiales provenientes de laboratorio. Chapingo, México. 2004.....	58
Cuadro 3.6.6	Medias para cuatro caracteres en el proceso de adaptación de los clones de tomate de cáscara micropropagados <i>in vitro</i>	60
Cuadro 4.5.1	Descripción de los materiales evaluados en dos ambientes.....	87
Cuadro 4.6.1.1	Cuadrados Medios del análisis de varianza de los 29 materiales de tomate de cáscara evaluados bajo acolchado.....	88
Cuadro 4.6.1.2	Medias para las variables consideradas en los tres cortes efectuados en el experimento de acolchado. Chapingo, México. 2004.....	90
Cuadro 4.6.1.3	Medias de caracteres de progenitores y cruzas de tomate de cáscara evaluados en acolchado.....	94
Cuadro 4.6.1.4	Porcentaje de heterosis respecto al mejor progenitor del promedio de cruzas bajo condiciones de acolchado.....	95
Cuadro 4.6.2.1	Cuadrados Medios del análisis de varianza de los 34 materiales de tomate de cáscara evaluados bajo condiciones de invernadero a los 7 DDT.....	96
Cuadro 4.6.2.2	Prueba de comparación de medias de las variables	97

	consideradas a los 7 DDT en el experimento bajo condiciones de invernadero. Chapingo, México. 2004.....	
Cuadro 4.6.2.3	Media de caracteres de progenitores y promedio de cruzas por grupo en tomate de cáscara.....	98
Cuadro 4.6.2.4	Porcentaje de heterosis respecto al mejor progenitor del promedio de cruzas bajo condiciones de invernadero a los 7 DDT	98
Cuadro 4.6.2.5	Cuadrados medios del análisis de varianza de los 34 materiales de tomate de cáscara evaluados bajo condiciones de invernadero a los 30 DDT.....	99
Cuadro 4.6.2.6	Prueba de comparación de medias las variables consideradas a los 30 DDT en el experimento bajo condiciones de invernadero. Chapingo, México. 2004.....	100
Cuadro 4.6.2.7	Media de caracteres de progenitores y cruzas de tomate de cáscara a los 30 DDT.....	101
Cuadro 4.6.2.8	Porcentaje de heterosis respecto al mejor progenitor del promedio de cruzas bajo condiciones de acolchado.....	102

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 4.6.1.1	Promedios de rendimiento total por grupo de híbridos en los tres cortes, en sistema de acolchado.....	93
----------------	--	----

RESUMEN GENERAL

La producción de hortalizas en México ha manifestado un importante impulso en el desarrollo del sector primario. El tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) es una de las hortalizas cultivadas más importantes toda vez que se ubica entre los primeros sitios con relación a superficie cultivada. Por otra parte, México es considerado como principal centro de origen del tomate de cáscara y posee enorme diversidad genética. Con base en lo anterior el Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo en 1985 inició un proyecto de colecta, conservación y mejoramiento de tomate de cáscara. A la fecha se cuenta con más de 200 colectas en el Banco de Germoplasma, la mayor parte han sido evaluadas por sus características agronómicas como rendimiento, altura, hábito de crecimiento, resistencia a plagas y enfermedades, homogeneidad en tamaño y peso de fruto. Sin embargo, el avance obtenido en su mejoramiento genético ha sido lento debido a lo limitado de los métodos de mejoramiento factibles de utilizar en esta especie, lo que se debe a la autoincompatibilidad gametofítica que presenta y que hace que se comporte como una especie alógama obligada. Una alternativa que reduciría el número de ciclos de manera importante es la selección individual para su posterior clonación *in vitro* pretendiendo generar líneas con alto grado de homocigosis que pueda ser cruzadas para explotar el vigor híbrido de las poblaciones obtenidas. Con base en esto, los objetivos del presente trabajo son los siguientes: a) Incrementar los clones empleando las técnicas de propagación *in vitro*; b) Aclimatizar los clones incrementados *in vitro* a condiciones de

invernadero y obtener semilla híbrida mediante cruza interclonales; c) Determinar si la heterosis de los híbridos formados originalmente (de plantas provenientes de semilla) se mantiene en los correspondientes formados en las plantas clonadas. El trabajo se llevó a cabo en tres fases, en la primera se utilizaron las instalaciones del Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales del Departamento de Fitotecnia. En la segunda fase se acondicionaron microtúneles con sistema de nebulización y timer. Y en la tercera fase se utilizó un lote del campo agrícola experimental así como uno de los invernaderos de Postgrado de Horticultura de la Universidad Autónoma Chapingo. El material genético base fueron los progenitores clonados de cinco híbridos planta a planta provenientes de las variedades CHF1 Chapingo y Verde Puebla. Para cada una de las tres fases de la presente investigación los resultados son los siguientes: **a) Incremento de clones *in vitro***, los resultados del análisis de varianza mostraron diferencias significativas entre los diez clones para la variable Longitud de Tallo (LT) tanto en tratamientos como en repeticiones. En la comparación de medias se detectó diferencias estadísticas importantes para la variable LT manifestándose los clones VIII y I como los mejores, mientras que los clones III y V fueron los que menos desarrollo mantuvieron. Entre promedios de medias de variedades Verde Puebla se mostró como la mejor en LT. Los resultados obtenidos sugieren diferentes tasas de crecimiento entre y dentro de variedades, ya que en esta especie cada planta incluso dentro de la misma variedad constituye un genotipo diferente, consecuencia de su condición de alógama obligada. **b) Aclimatización de clones en condiciones de**

invernadero y obtención de semilla híbrida; Se consideraron las variables de tasa de sobrevivencia o plantas de desarrollo normal (PN), plantas sin desarrollo (PSD), plantas contaminadas por hongos (CF) y porcentaje de plantas sobrevivientes (PPS). No se encontraron diferencias significativas entre tratamientos en las tres primeras variables, pero sí en PPS. También se observó que para PPS el clon IV mantiene una alta tasa de sobrevivencia y resalta como el mejor material en dicho proceso; por otra parte, el clon IX presentó problemas de adaptación con apenas el 68 % de las plantas sobrevivientes. Contrastando las medias por grupo de variedades no se observaron diferencias significativas, ante lo que se concluye que la aclimatación al invernadero de plantas provenientes de cultivo *in vitro* es eficiente (79 %) y que es posible obtener semilla viable de cruas interclonales planta a planta. c) **Determinación de heterosis en condiciones de campo e invernadero.** Para condiciones de acolchado según la prueba de comparación de medias existieron diferencias significativas ($\alpha = 0.05$) para los caracteres rendimiento por planta en el primer corte (RPP1) y rendimiento total en primer corte (RT1) mostrándose superior el tratamiento 28 (híbrido de semilla botánica), pero estadísticamente igual a uno de los progenitores originales (CHF1- Chapingo); así mismo, este progenitor mostró superioridad para el carácter número de frutos por planta en el primer corte (NFP1). De acuerdo con la comparación de los promedios por grupos, la media de los tres mejores híbridos de semilla botánica superó en rendimiento total al resto de los grupos. El grupo de híbridos clonales se comportó en forma similar al resto de los

grupos y la media de los progenitores es sólo superado por el grupo de los mejores tres híbridos. El valor promedio de la heterosis de las cruzas respecto al mejor progenitor fue negativo en todos los casos, con excepción del segundo corte donde se manifestaron heterosis positivas. Bajo condiciones de invernadero los análisis de varianza mostraron diferencias significativas para las variables altura de planta (AP) tanto en tratamientos como en repeticiones y no significativas en el resto de los caracteres. En consideración de las circunstancias presentadas para este ambiente de evaluación las variables registradas no permitieron un análisis más minucioso. En la prueba de comparación de medias existieron diferencias significativas sólo en el carácter AP mostrándose superior el tratamiento 23 (Híbrido de semilla botánica), aunque estadísticamente igual a los dos progenitores. Entre grupos, el progenitor Verde Puebla se comportó diferente que todos los promedios de cruzas y que la variedad Chapingo para el carácter AP, pero no así para NH, en la cual, aunque estadísticamente fue igual al resto de los tratamientos. En todos los caracteres evaluados se manifestó heterosis promedio negativa respecto al mejor progenitor, aunque no fue estadísticamente significativa ($\alpha = 0.05$). Los híbridos interclonales se mantuvieron en la media de todos los materiales evaluados y ninguno fue superado estadísticamente por el grupo de las mejores cruzas. Según los resultados mostrados se concluye que la técnica de micropropagación *in vitro* en tomate de cáscara para hacer cruzas interclonales no modifican el comportamiento de los híbridos respecto a los obtenidos de plantas provenientes de semilla botánica.

ABSTRACT

The vegetable production in Mexico has shown an important increase in the development of the primary sector. Among the multiple cultivated vegetables, the husk tomato (*Physalis ixocarpa* Brot.) is one of the more important in terms of cultivated area. On the other hand, Mexico is considered as the main origin center of husk tomato and it possesses an enormous genetic diversity. Under these circumstances the Departamento de Fitotecnia of Universidad Autónoma Chapingo in 1985 started a project in order to collect, conserve, and improve husk tomato. There are more than 200 accessions in the National Vegetable Germplasm Bank, most of them have been evaluated for characters such as plant height, growth habit, resistance to pests and diseases, size homogeneity, and fruit weight. However, the advance obtained in its genetic improvement has been slow due to the gametic self-incompatibility shown by this species that makes it behave as an alogamous species. An alternative that would decrease the number of cycles in the tomato improvement is the individual selection followed by *in vitro* clonation seeking to generate highly homozygous lines that can be crossed to exploit the hybrid vigor. In this work, the objectives are: a) To increase clones using *in vitro* propagation techniques; b) To adapt *in vitro* increased clones under greenhouse conditions and to obtain hybrid seed from interclonal crosses; c) To determine if heterosis of conventional hybrid is also shown by hybrids whose parents are grown under *in vitro* conditions. The work was carried out in three phases. In the first one the Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales of Departamento de Fitotecnia was used; in the second one

microtunels were conditioned with nebulization system; and in the third one a plot of the experimental agricultural field as well as one greenhouse of Posgrado en Horticultura of Universidad Autónoma Chapingo were used. The basic genetic material were cloned parents of five plant to plant hybrids coming from the varieties CHF1 Chapingo and Verde Puebla. The results were: a) Relative to the increase of clones *in vitro*; analysis of variance showed statistical significant ($\alpha = 0.05$) differences among the clon means shaft length (LT). Clones VIII and I were the largest, while clones III and V showed the lowest development. Among, varieties Verde Puebla was the largest. Results suggest different growth rates among and within varieties, since in this species each plant is a particular genotype due to its alogamous reproduction. b) Relative to the adaptation of clones to greenhouse conditions and hybrid seed; rate of survival or plants with normal development (PN), plants without development (PSD), fungal plants (CF) and Percentage surviving plants (PPS), statistical ($\alpha= 0.05$) differences among means were not found, but there were for PPS; clone IV was the best material. Clone IX shows problems of adaptation (68 % of survivors). Contrasting the means for group of varieties, significant differences were not observed, and it was concluded that the acclimatization to the greenhouse of plants coming from cultivation *in vitro* is efficient (79 %) and that it is possible to obtain viable seed from crosses between clones. c) Heterosis determination in field and greenhouse conditions; for padded conditions the comparison of means showed statistical differences ($\alpha= 0.05$) in yield per plant in the first harvest (RPP1) and total yield in first harvest (RT1), with the superior treatment being the number 28

(hybrid of botanical seed), but statistically ($\alpha = 0.05$) equal to one of the original progenitors (CHF1 - Chapingo); likewise, this progenitor showed superiority for number of fruits per plant in the first harvest (NFP1). In the comparison of averages for groups, the group of plants generated with botanical seed produced the largest total yield. The group of clone hybrids and the rest of the groups performed similarly; the mean of the parents was the highest except for the mean of the group of the best three hybrids. The average value of the heterosis of the crosses relative to the best parent was always negative, except for the second harvest where they showed positive heterosis. Under greenhouse conditions the analyses of variance showed significant differences only for plant height (AP). In the comparison of means significant differences existed only for AP; with the superior treatment being the number 23 (Hybrid of botanical seed), although statistically ($\alpha = 0.05$) equal to the two parents. Among groups, the Verde Puebla parents performed better than all cross averages and that the Chapingo variety for this character (AP), but it did not happen for NH, where not statistical differences unavailing Chapingo variety were found. In all characters negative average heterosis with respect to the best progenitor, was observed although it was not statistically significant. The interclonal hybrid showed an average performance but statistically equal ($\alpha = 0.05$) to the best crosses. According to the shown results it can be concluded that for husk tomato the *in vitro* micropropagation of interclonal cross hybrids do not affect their performance relative to the same hybrids when they are produced via botanical seed.

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

Es preciso describir la agricultura como una disciplina multifactorial, donde cada factor incide directamente en el rendimiento y calidad de las plantas que son cultivadas por el hombre. En gran medida el éxito obtenido en la producción de cualquier cultivo, se supedita en el manejo inteligente que se haga de los insumos agrícolas.

La producción de hortalizas en México ha manifestado un importante impulso en el desarrollo del sector primario. Entre las múltiples hortalizas cultivadas, el tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) es una de las más importantes, toda vez que se ubica entre los primeros cuatro sitios con relación a superficie cultivada (en el 2000 se sembraron 52 000 ha). Sinaloa, Michoacán, Jalisco, México, Puebla, Sonora, Guanajuato e Hidalgo son los principales estados productores (SAGARPA, 2000). Su uso más difundido es el alimenticio; no obstante, se utiliza con fines medicinales, artesanales y decorativos. Su importancia se refleja en el hecho de que de ser una planta poco conocida pasó a ser una hortaliza de amplio cultivo en México (De acuerdo con DGEA-SARH, de 1940 a 1990 la superficie dedicada al tomate de cáscara se incrementó en un 678 %).

En otro contexto, el fitomejoramiento juega un importante papel para el desarrollo de la agricultura mundial, contribuye en la generación de nuevas variedades con mayor potencial de rendimiento, mejor adaptadas y mejores características físicas y químicas de la producción. México como centro de origen de la especie *P. ixocarpa* posee una enorme diversidad genética, hecho

que obedece a la forma de reproducción, considerada como alógama obligada dado que presenta autoincompatibilidad gametofítica (Pandey, 1957), por lo que el mejoramiento genético generado hasta la fecha está limitado a la selección (masal, familiar de medios hermanos y combinada de medios hermanos) y sólo dos variedades mejoradas (Rendidora y CHF1- Chapingo) se han obtenido. Una buena alternativa para el mejoramiento de esta especie y que reduciría considerablemente el número de ciclos, es la selección individual, seguida de la clonación *in vitro* de las plantas seleccionadas, pues se pueden obtener líneas con alto grado de homocigosis (si se obtienen haploides por cultivo de anteras y duplicándolos con colchicina para la obtención de dihaploides), mismos que pueden ser cruzados y de esta manera explotar el vigor híbrido de las cruza obtenidas (Peña *et al.*, 1998).

Peña (1998) empleo el método uno del diseño de Griffing en su tesis doctoral, haciendo todas las cruza posibles entre diez variedades de diferente razas de tomate de cáscara; encontrando como la mejor cruza intervarietal Verde Puebla y CHF1-Chapingo, con lo que se inició un programa de mejoramiento por hibridación para esta especie con estas dos variedades.

Santiaguillo (2003) realizó 560 cruza planta a planta entre las variedades CHF1-Chapingo y Verde Puebla, y encontró que las heterosis promedio respecto al progenitor medio y respecto al mejor progenitor fueron significativas ($\alpha = 0.05$), por lo que concluyó que su utilización comercial bajo el enfoque de hibridación de clones planta a planta es pertinente.

Paralelamente a los trabajos de formación y evaluación de los híbridos intervarietales planta a planta, Santiaguillo (2003) clonó *in vitro* las plantas progenitoras de los híbridos derivados, por lo que ahora se cuenta con clones de los progenitores de cinco híbridos. Con base en esto, los objetivos del presente trabajo fueron: a) Incrementar los clones empleando las técnicas de propagación *in vitro*; b) Aclimatizar los clones incrementados *in vitro* a condiciones de invernadero y obtener semilla híbrida mediante cruza interclonales; c) Determinar si la heterosis de los híbridos formados originalmente (de plantas provenientes de semilla) se mantienen en los correspondientes formados en las plantas clonadas. La hipótesis establecida en el presente trabajo es que es posible obtener semilla híbrida a partir de clones micropropagados *in vitro* y que la heterosis respecto a los híbridos originales se mantiene, porque la clonación *in vitro* mantiene el genotipo de los progenitores.

Cada uno de los objetivos requirió una investigación y cada investigación se presenta como un capítulo del presente trabajo. Al final se hace una discusión general que integra los resultados más importantes de las tres investigaciones, de donde se generan las conclusiones generales de la presente tesis.

2. MICROPROPAGACIÓN DE DIEZ MATERIALES DE TOMATE DE CÁSCARA (*Physalis ixocarpa* Brot.)

2.1 RESUMEN

México es considerado como el principal centro de origen del tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) y posee enorme diversidad genética. No obstante, su mejoramiento ha sido limitado, por su condición de alógama obligada, que imposibilita la obtención de líneas puras y en consecuencia la formación de híbridos convencionales. Una alternativa que reduciría el número de ciclos de manera importante es la selección individual para su posterior clonación *in vitro* pretendiendo generar líneas con alto grado de homocigosis para que en su cruzamiento permita explotar el vigor híbrido. Así, el objetivo del presente trabajo fue incrementar *in vitro* a partir del cultivo de yemas axilares cinco clones de la variedad Verde Puebla y cinco de CHF1 Chapingo. Los resultados del análisis de varianza mostraron diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0.05$) entre los diez clones para la variable Longitud de Tallo (LT) tanto en tratamientos como en repeticiones. La comparación de medias de Tukey también detectó diferencias estadísticas ($\alpha= 0.05$) para la variable LT; los clones VIII y I fueron los mejores, mientras que los clones III y V fueron los que menos desarrollo mantuvieron. En promedio de clones de cada variedad, Verde Puebla mostró mayor LT, Diámetro de tallo y número de yemas. Los resultados obtenidos sugieren diferentes tasas de crecimiento entre variedades y dentro de variedades, ya que en esta especie cada planta incluso dentro de la

misma variedad constituye un genotipo diferente, consecuencia de su condición de alógama obligada.

2.2 ABSTRACT

Mexico is considered the main origin center of husk tomato (*Physalis ixocarpa* Brot.) and it possesses enormous genetic diversity. Nevertheless, its genetic improvement has been limited, because of its forced alogamous condition that avoids obtaining pure lines and consequently forming conventional hybrids. An alternative that would reduce the number of cycles in an important way is the individual selection for its later *in vitro* cloning to generate highly homozygone lines that can be crossed to exploit the hybrid vigor. The present work objective was to increase clones *in vitro* starting from the cultivation of axillaries buds from five clones of the Verde Puebla variety and five of CHF1 Chapingo variety. The analysis of variance results showed significantdifferences ($\alpha = 0.05$) among the ten clones for Shaft Length (LT). The comparison of means of Tukey shows differences ($\alpha = 0.05$) for the variable LT showing that clones VIII and I were the mayor, while the clones III and V were those that less development showed. In average of clones of each variety, Verde Puebla was the mayor for LT. The obtained results suggest different rates of growth among and inside varieties, since in this species each plant even inside the same variety constitutes a different genotype, consequence of their condition of forced alogamous.

2.3 INTRODUCCIÓN

La producción de hortalizas en México ha manifestado un importante impulso en el desarrollo del sector primario. El tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa*, Brot.) es una de las hortalizas cultivadas más importantes, toda vez que se ubica entre los primeros cuatro sitios con relación a superficie cultivada. En el 2000 se sembraron 52 000 ha (SAGARPA, 2000). Por otra parte, resalta la enorme importancia cultural y económica que el tomate de cáscara tiene en nuestro país, ya que ha sido empleado desde tiempos precolombinos y en la actualidad es insustituible en la dieta alimenticia (Menzel, 1951; Peña *et al.*, 1998).

México como principal fuente de origen posee una enorme diversidad genética de la especie *P. ixocarpa*, debido a su forma de propagación, considerada como alógama obligada por presentar autoincompatibilidad gametofítica (Pandey, 1957). Por lo anterior, el mejoramiento genético generado hasta la fecha se ha limitado a la selección (masal, familiar de medios hermanos y combinada de medios hermanos). Sólo dos variedades mejoradas (Rendidora y CHF1- Chapingo) han sido obtenidas. Una opción que reduciría el número de ciclos de mejoramiento es la selección individual para su posterior clonación *in vitro* con el propósito de obtener líneas con alto grado de homocigosis que pueden ser cruzadas para explotar el vigor. Otras ventajas que representa el empleo de las técnicas de cultivo *in vitro* son la propagación de cultivares libres de enfermedades y la preservación de germoplasma. El

empleo de estas técnicas requiere una metodología de manejo específico para cada especie e incluso para cada cultivar o variedad dentro de la misma especie, que asegure su buen desarrollo y multiplicación. Por esto se requiere del conocimiento preciso de los factores que intervendrán en tales procesos.

Santiaguillo *et al.* (2004) realizaron 560 cruza planta a planta entre las variedades CHF1-Chapingo y Verde Puebla, y encontraron que las heterosis promedio respecto al progenitor medio y respecto al mejor progenitor fueron significativas. Adicionalmente se clonaron *in vitro* las plantas progenitoras de los híbridos derivados, por lo que actualmente se cuenta con los progenitores de cinco de dichos híbridos en el laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales del Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo. Bajo este contexto el objetivo planteado fue incrementar los clones a partir del cultivo *in vitro* de yemas axilares, a fin de obtener material suficiente para la continuación de las fases de aclimatización, cruzamiento y evaluación de híbridos intraclonales.

2.4 REVISIÓN DE LITERATURA

2.4.1 Aspectos generales e importancia del tomate de cáscara

El tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) es una especie nativa de México y es conocida con una diversidad de nombres comunes, entre ellos tomate, tomate verde, tomate de fresadilla, tomate de hoja, tomate de bolsa y tomatillo. Su cultivo data desde tiempos prehispánicos y era conocido por los aztecas como miltomatli, esta especie se distribuye prácticamente en todo el territorio mexicano, encontrándose una amplia variabilidad genética, en forma silvestre, fomentada, cultivada o domesticada, ocupando múltiples condiciones naturales (Santiaguillo y López, 1994).

Conforme Peña y Márquez (1990), esta amplia variabilidad genética del tomate de cáscara constituye un invaluable recurso para su mejoramiento. Esta especie es cultivada en prácticamente todo el país, lo que indica su gran adaptación a diversas condiciones climáticas y edáficas. Por otra parte, el cultivo de tomate de cáscara es generador de empleos, por la gran cantidad de mano de obra requerida, principalmente durante la cosecha (Saray y Loya, 1977).

Los principales problemas de índole fitosanitario a los que se enfrenta esta especie son: cenicilla polvorienta (*Erysiphe polygoni* D.C.), cenicilla vellosa (*Oidium* sp.), ojo de rana o carbón blanco del tomate de cáscara (*Entyloma australe* Speg), tizón temprano (*Alternaria* sp.), amarillamiento causado por

Fusarium (*Fusarium* sp.) y virus (virus X de la papa y chino del tomate) (Menniaen *et al.*, 1995).

Las principales plagas son: el picudo del toloache (*Trichobaris mucorea* LeConte), el mayate del tomate de cáscara (*Lema trilineata daturaphila* Kogan y Goeden), la pulga saltona (*Epitrix* sp.), mosca del tomate de cáscara (*Melanagromyza tomaterae* Steyskal.) y vectores transmisores de virus como mosquita blanca (*Bemisia tabaci*) mismos que generalmente originan grandes pérdidas, siendo necesario para su control el empleo de una gran cantidad de productos químicos, lo que trae como consecuencia el incremento en los costos de producción y en caso de no lograr este control, el detrimento de la calidad y disminución de las posibilidades de comercialización y rentabilidad de los cultivos establecidos.

2.4.2 Citogenética

La especie *Physalis ixocarpa* Brot. presenta un número cromosómico de $2n = 24$; tanto en la forma silvestre como cultivada. Tiene de cuatro a seis cromosomas pequeños y uno metacéntrico con un par de satélites pequeños, que se diferencia de los 11 pares restantes (García, 1976).

2.4.3 Propagación del tomate de cáscara

Esta es una especie de propagación sexual (mediante semilla botánica), mismo que implica la segregación de nuevos y diferentes genotipos. La especie

Physalis ixocarpa, Brot. está considerada como una planta alógama obligada (Pérez *et al.*, 1998), donde Pandey (1957) encontró un sistema de autoincompatibilidad homomórfica con control gametofítico y epistasis de dos genes, cada uno con alelos múltiples, que ejercen dicho control. La fisiología genética del estilo corresponde a una acción individual y epistática. Dicho sistema de autoincompatibilidad se manifiesta en el polen cuando uno o más alelos están presentes tanto en el grano de polen como en el estilo. La incompatibilidad es una imposibilidad fisiológica controlada genéticamente para producir frutos por autofecundación. Este proceso puede operar en cualquier estado entre la polinización y la fecundación. El polen generalmente no llega a germinar, y si lo hace, el tubo polínico no puede penetrar a través del estigma, aunque se ha encontrado que algunas veces el polen incompatible puede germinar y el tubo polínico crece a lo largo del estilo, pero lo hace tan lentamente que rara vez alcanza el tiempo para efectuar la fecundación. La velocidad de crecimiento de los tubos polínicos incompatibles puede ser influida por el genotipo en el que el gene (o genes) que controla la incompatibilidad opera. Este mecanismo de propagación le confiere cierta ventaja evolutiva puesto que garantiza la supervivencia de la especie mediante la generación de alta variabilidad genética, además de ser una herramienta esencial para el seleccionador (Margará, 1998).

Por otra parte, la propagación asexual de esta especie se puede llevar a cabo con relativa facilidad, ya sea mediante el enraizamiento de esquejes (García *et al.*, 2001) o bien mediante la Micropropagación *in vitro* (Ramírez y

Ochoa, 1991). Sin embargo, no se ha practicado hasta la fecha de manera extensiva, ni para fines comerciales ni en relación con el mejoramiento genético.

2.4.4 Micropropagación

La Micropropagación vegetativa es una técnica que permite el desarrollo de nuevas plantas en un medio artificial, bajo condiciones asépticas y a partir de porciones muy pequeñas, tales como embriones, semillas, tallos, ápices de ramas o de raíces, callos células individuales y granos de polen (Pierik, 1990).

La propagación convencional (semilla, estacas, bulbos, injertos, entre otros), es un proceso lento, por las condiciones en que estas se realizan. Sin embargo, en la actualidad con la ayuda del cultivo de tejidos *in vitro* se ha generalizado la Micropropagación, como consecuencia de los excelentes resultados que sean obtenido en una infinidad de especies, a través de la disección y sembrado de yemas axilares. Las yemas axilares, con desarrollo meristemático terminal, son aprovechadas por su potencial para incrementar materiales. Mediante la preparación de esta práctica se pueden producir gran cantidad de plantas desde ornamentales hasta forestales con excelente calidad fitosanitaria y las mejores características genéticas (Debergh, 1991).

Las principales aplicaciones y ventajas que ofrece esta técnica de multiplicación masiva son: a) El establecimiento de plantas libres de organismos patógenos; b) El aislamiento de células o líneas celulares que pueden

convertirse en nuevas variantes de plantas, y c) La multiplicación rápida en condiciones asépticas (Hartmann *et al.*, 1990).

2.4.4.1 Métodos de propagación *in vitro*

Los métodos de Micropropagación más utilizados actualmente son los cinco que se describen a continuación:

1. Micropropagación a partir del cultivo de meristemos apicales, ápices caulinares o de yemas (apicales o axilares). a) En el caso del cultivo *in vitro* del meristemo apical, existe una alta posibilidad de obtener plantas libres de patógenos, tales como nemátodos, hongos, bacterias, y virus, dado que pueden ser transmitidos de plantas enfermas a sanas. Dado que no todas las células resultan infectadas; los tejidos meristemáticos se encuentran algunas veces libres de enfermedades por lo que es posible recobrar plantas no infectadas mediante estas técnicas y lograr su crecimiento como plantas sanas (Hurtado y Merino, 1988). Sin embargo, la dificultad para su establecimiento *in vitro* debido a su pequeño tamaño, ocasiona que la mayoría de las veces se incluya al domo apical más algunos primordios foliares subyacentes. Cabe destacar que existe una mayor posibilidad de obtener plantas libres de virus, si sólo se aísla el meristemo; sin embargo, la sobrevivencia de un meristemo sin primordios foliares es muy pequeña, como se ha demostrado en el caso de clavel. Por otro lado, el aislamiento de meristemos más grandes (con más primordios foliares) hace que la posibilidad de obtener plantas libres de virus sea muy pequeña, ante lo que generalmente se seleccionan plantas madres libres de

enfermedades y esta técnica se emplea solo en caso de que se requiera recuperar un genotipo específico. b) Los ápices caulinares corresponden a las regiones subapicales del brote en crecimiento (0.5 a 2.0 cm de longitud). c) El cultivo de yemas se inicia a partir de yemas apicales o axilares, generalmente unidas a un segmento de tallo (nudo). En Micropropagación se prefieren los cultivos de yemas sobre los meristemos o sobre los ápices caulinares muy pequeños, cuando no se requiere la eliminación de virus o el saneamiento de clones. El uso de explantes de mayor tamaño es preferible por su mayor facilidad en el aislamiento y manejo, aunado a que la tasa de supervivencia y crecimiento *in vitro* es considerablemente superior (Vieitez *et al.*, 1987).

2. Micropropagación mediante producción de brotes adventicios vía organogénesis. Durante la organogénesis *in vitro*, una vez que el explante ha sido colocado en el medio de cultivo, intrínsecamente ocurren varias etapas, que son: desdiferenciación de las células diferenciadas, división celular, generalmente seguida por la formación de callo, y la iniciación y desarrollo de los órganos (Vieitez *et al.*, 1987, Pierik, 1990)

3. Micropropagación por inducción de embriones adventicios o embriogénesis somática. Cuando los embriones se regeneran a partir de células o tejidos somáticos (haploides, diplóides, etc.), se habla de embriogénesis somática; ésta puede considerarse como opuesta a la embriogénesis cigótica, que es el resultado de la fertilización de una célula gamética. Los embriones somáticos son estructuras de tipo embrionario, embriones vegetativos o adventicios y embrioides; al proceso de su formación se le denomina embriogénesis

adventicias, asexual o somática (Pastelín, 1999). La producción de embriones somáticos a partir de células, tejidos y cultivo de órganos puede ocurrir directa o indirectamente. El método directo de embriogénesis somática involucra la formación de un embrión asexual a partir de una célula individual o un grupo de células de una parte del tejido del explante, quedando fuera la fase de callo. Como ejemplo tenemos tejido nucelar de cultivares cítricos poliembriónicos. En el método indirecto de embriogénesis se utiliza un estado intermedio del desarrollo de callo o un cultivo de suspensión de células durante el cual se induce un cambio en la potencialidad de las células mediante el uso de auxinas, las cuales posteriormente se retiran y se induce la formación de embriones (Hartman y Kester, 1990).

4. Inducción de órganos de reserva. Varias especies ornamentales y comestibles son normalmente propagadas, guardadas y sembradas mediante sus órganos vegetativos de reserva (bulbillos, protocormos y microtuberculos) Cuando estos órganos son producidos *in vitro*, ellos proveen un método conveniente de propagación, fijación y conservación del genotipo, aunque presentan la desventaja de ser vehículos de transmisión de enfermedades (Pastelín, 1999).

5.. Microinjerto. Existen cinco métodos utilizables para producir plantas libres de virus: tratamiento térmico, cultivo de meristemos, tratamiento por calor seguido de cultivo de meristemos, formación de vástagos adventicios seguido del cultivo de meristemos, e injerto de meristemos sobre patrones (plántulas), libres de virus conocido también como microinjerto.

2.4.4.2 Fases de la propagación *in vitro*

La obtención de las plántulas *in vitro* es un proceso laborioso que se puede dividir en varias etapas, Murashige (1974) propuso las siguientes:

I) Establecimiento aséptico del cultivo: Los factores que determinan el éxito de esta etapa incluyen el tipo de explante, eliminación de contaminantes del mismo; es indispensable considerar un manejo apropiado de las plantas madre, así como un método efectivo de desinfectación con el fin de reducir y eliminar contaminación causada por hongos y bacterias.

II) Micropropagación de explantes: La función de esta etapa es incrementar el número de propagulos para su enraizamiento posterior hasta el estado de plántula. Los explantes obtenidos de la etapa uno, se vuelven a cultivar en un nuevo medio y la multiplicación depende de la producción continua de brotes axilares o de brotes adventicios. Es importante que los subcultivos se realicen a intervalos de tres a cuatro semanas, de preferencia se deben hacer cuando los brotes empiezan aumentar de longitud.

III) Preparación para el restablecimiento de las plántulas y transplante al suelo, una vez obtenidos los brotes se debe promover la formación de raíz adventicia para construir una planta completa (para el caso de embriones somáticos solo se requiere un subcultivo para promover el desarrollo de raíces, en algunas especies a sido posible tratar los brotes como miniestacas, efectuándose el enraizamiento bajo condiciones *ex vitro*, al colocarles polvo enraizador Acido Indol Acético (AIA), y posteriormente plantarlos en un contenedor con sustrato húmedo.

Debergh y Maene (1981) agregan la fase 0 que corresponde a la preparación del material *in vivo*, la cual se hace antes de iniciar el proceso de propagación, que debe ser reconocida como una fase independiente; además, subdivide en dos a la tercera etapa de Murashige (1974): IIIa) Alargamiento de brotes formados durante la etapa II; IIIb) Enraizamiento *in vitro* o *extra vitrum* de los brotes crecidos en la etapa anterior. En la actualidad se reconoce una cuarta fase, que es cuando las plantas son transferidas a invernadero.

La adaptación a condiciones *in vivo* involucra aspectos anatómicos y fisiológicos de las plántulas, así como los factores físicos (Pierik, 1990).

Las plántulas cultivadas *in vitro* generalmente tienen la cutícula (capa de cera) escasamente desarrollada, debido a la alta humedad relativa (90 a 100 %) que se da *in vitro*. Como consecuencia, cuando se saca la plántula del laboratorio se produce una transpiración cuticular extra, ya que la humedad del aire en las condiciones *in vivo* es más baja. Las hojas de una plántula producida *in vitro* son frecuentemente finas, blandas y fotosintéticamente poco activas; y por ello mal adaptadas a las condiciones naturales. Las plántulas procedentes del tubo de ensayo tienen las células del mesófilo, que son las fotosintéticas, más pequeñas y en menor cantidad. Los estomas de las plántulas *in vitro* pueden no ser suficientemente operativos, de manera que permanecen abiertos cuando la plántula ha pasado al suelo, lo que puede ser origen de un importante estrés hídrico durante las primeras horas de aclimatación. Es importante tomar en cuenta que las plántulas *in vitro* han sido cultivadas como heterótrofas, al proporcionarles el azúcar exógenamente (medio de cultivo), y que deben

convertirse en autótrofas *in vivo* pues el azúcar debe ser producido por medio de la fotosíntesis (Pierik, 1990).

La aclimatación puede lograrse permitiendo a las plántulas *in vitro* habituarse de forma gradual a una humedad relativa más baja, como la que encontrarán *in vivo*. El desarrollo del mecanismo de cierre estomático es un componente muy importante en el proceso de aclimatación (Pierik, 1990).

2.4.4.3 Factores que influyen en la micropropagación *in vitro*

El material experimental por si mismo (genotipo), así como el medio nutritivo y los factores fisiológicos de crecimiento, influyen en el crecimiento y desarrollo *in vitro* de las plantas micropropagadas.

Influencia del material vegetal:

a) Genotipo: La capacidad de regeneración en el reino vegetal es muy variada. Las plantas dicotiledóneas generalmente se regeneran mejor que las monocotiledóneas, teniendo las gimnospermas una capacidad de regeneración muy limitada (excepto cuando están en estado juvenil). Sin embargo, existen grandes diferencias en cuanto a la capacidad de división celular y regeneración aún entre plantas de la misma especie. Si una especie regenera órganos fácilmente *in vivo*, cabría esperar que tenga el mismo comportamiento *in vitro*. No obstante lo anterior, en ocasiones existen profundas diferencias entre la capacidad regenerativa *in vitro* e *in vivo*.

b) Edad de la planta, los tejidos embrionarios generalmente tienen una alta capacidad regenerativa. Conforme la planta envejece, su capacidad regenerativa suele disminuir.

c) Estado fisiológico, en general los fragmentos de plantas en estado vegetativo regeneran *in vitro* con más facilidad que los fragmentos de plantas en estado generativo, aunque existen ciertas excepciones.

d) El estado sanitario de la planta repercute sobre el porcentaje de infección después del aislamiento, por lo que se debe seleccionar el material vegetal más sano.

e) Las condiciones de crecimiento influyen también en el proceso, los materiales que han sido cultivados bajo condiciones naturales de luz y duración del periodo luminoso reaccionarán de modo diferente al que haya crecido en un invernadero. En general un material de invernadero (más etiolado) regenera con más facilidad que uno procedente del exterior.

f) La posición del explante dentro de la planta también cobra importancia, topófisis es el fenómeno que explica dicha influencia. Por ejemplo, cuanto más alto es el vástago aislado, menor es la probabilidad de que formen raíces adventicias, ya que las porciones más altas son más adultas que las más bajas.

g) Tamaño del explante, en general se puede decir que es mucho más difícil inducir el crecimiento en estructuras muy pequeñas como: células, agregados de células y meristemos, que en estructuras más grandes como: explantes de hojas, tallo o tubérculo. Cada fracción aislada de una planta tiene su propia porción de reservas y hormonas, siendo obvio que cuanto mayor sea el

fragmento vegetal más fácil es inducir el crecimiento y regeneración. Cuando se tienen explantes (pequeños *versus* grandes) se debería tener en cuenta que la porción entre la herida (induce la síntesis de etileno) e intacta, influye en la regeneración.

h) Método de inoculación, los explantes se pueden situar en el medio nutritivo de diferentes formas: Polar (derechos, con su base fisiológica apoyada sobre el medio), o apolar (invertidos, con su base fisiológica fuera del medio y su parte superior apoyada en el medio). Las raíces y los vástagos son capaces de regenerar generalmente con más facilidad y más rápidamente si se hace una inoculación apolar, lo que obedece a una mayor oxigenación (Pierik, 1990).

Por otra parte, resulta necesario, en la práctica de cultivo *in vitro*, disponer de una cámara de incubación, que no es otra cosa más que una habitación construida mediante paneles aislantes, con dimensiones variables conforme las necesidades de el usuario. Debe tener control sobre los factores luz y temperatura. Diferentes intensidades de luminosidad (a fin de otorgar diferentes fotoperíodos en los explantes que serán incubados, mismo que garantice su buen desarrollo) y temperaturas entre 4 a 40° C conforme las necesidades del cultivo en cuestión, lo que se puede logra mediante extractores de aire, calefactores y ventiladores. En algunos casos puede tener control sobre la humedad relativa, misma que puede programarse entre 65 al 95 %, con generador de humedad de ultrasonidos (que no aporta calor a la cámara) y deshumidificación por punto de rocío (Mageau, 1993).

2.4.4.4 Cambios cromosómicos en la Micropropagación

Existen riesgos de que se produzcan mutaciones, por lo tanto variaciones genéticas en algunos métodos de propagación vegetativa *in vitro*, específicamente en la formación de vástagos adventicios, cultivos de callos, cultivo de células en suspensión y cultivo de protoplastos; entendiéndose por variación genética, aquella variante que es heredable, es decir que se transmite vía sexual a la descendencia de las plantas obtenidas a partir de cultivos de células; el termino mutación es cuando se transmite meióticamente, de acuerdo con las leyes de la herencia; se utiliza el termino variante cuando no se conoce la naturaleza de los cambios heredables. Cuando se observa una variación genética en las plantas que han sido regeneradas *in vitro* (generalmente como resultado de la inestabilidad genética) se emplea el termino variación somaclonal (Scowcroft, 1985; Ando *et al.*, 1986; Pierik, 1990).

La aparición de mutaciones no resulta siempre fácil de determinar, ya que depende a menudo y en gran medida de las condiciones ambientales, y se pueden presentar frecuentemente micromutaciones difíciles de identificar, para lo que se requiere de la ayuda de los métodos citológicos en su identificación o de otras técnicas especializadas, como la electroforesis para identificar iso-enzimas. Además de la variación somaclonal se pueden presentar también variaciones epigenéticas (cambio de la expresión genética), siendo esta reversible y no heredable (Pierik, 1990).

En términos generales se puede decir que, cuando más se rompe la estructura organizativa de una planta, es mayor la posibilidad de que se

produzca una mutación. La estabilidad genética es casi seguro que permanece intacta, si la propagación *in vitro* se lleva acabo utilizando el método de explantes nodales o yemas axilares; en cambio, si se producen vástagos adventicios, como resultado del empleo de reguladores de crecimiento, se incrementan la posibilidad de que se produzca algún tipo de mutación (Pierik, 1990).

En la bibliografía se ha indicado que el uso de algunos reguladores como el ácido 2-4 diclorofenoxiacético (2, 4-D), ácido naftalenacético (NAA) y citokinas sintéticas producen un fuerte incremento de mutaciones. La kinetina induce de forma selectiva la división celular en células que son poliploides en su estado natural (D'Amato, 1977; Pierik, 1990).

2.4.4.5 Micropropagación en tomate de cáscara.

La incompatibilidad gametofítica que presenta el tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) hace que sea una planta alógama obligada, produciendo poblaciones heterogéneas heterocigóticas con restricciones en su mejoramiento genético a través de semilla, particularmente la hibridación. Ante tal situación se han realizado investigaciones a partir de la propagación asexual, dado que cada célula de la planta contiene la información necesaria para regenerar una planta entera, es decir, la clonación; ésta se puede hacer mediante cultivo *in vitro* de células o tejidos o bien mediante enraizamiento de esquejes o estacas (Bidwell, 1990).

La clonación de plantas en esta especie, previa selección individual de genotipos, ofrece la ventaja de que en un solo ciclo genera líneas con alto grado de homocigosis, para su posterior cruzamiento y de esta forma explotar el vigor híbrido de las cruas obtenidas, metodología ensayada por Ramírez y Ochoa (1991) empleando como explante hipocotilo, en medio MS y diferentes reguladores de crecimiento.

El cultivo de anteras (Ortuño, 1998) es otra alternativa, permitiendo la utilización de dihaploides homocigotos. Sin embargo, un alto porcentaje de las anteras cultivadas presentan oxidación, daño causado por la enzima polifenol oxidasa, la que oxida los fenoles, produciendo quinonas, compuestos tóxicos e insolubles. Esta reacción es importante en el proceso de respiración y puede estar presente en la senescencia (Bidwell, 1990).

En la propagación por estacas es de gran importancia la fuente de origen del material, deben ser plantas libres de plagas y enfermedades y estar en un estado fisiológico adecuado para que tengan probabilidades de enraizar (Harmann y Kester, 1990).

Weaver (1990) menciona que el ácido indolacético (AIA) tiene actividad auxínica débil y los sistemas de enzimas destructoras de auxinas son relativamente lentos, siendo un persistente y eficaz estimulante del enraizamiento. En este mismo sentido, Boutherin y Bron (1994) menciona que el AIA es un producto de síntesis muy poco tóxico para la planta; tiene mala actividad auxínica general, pero excelente acción rizógena, se mueve poco en

la planta, por lo que tiene una acción muy localizada y es bastante estable a la luz.

En cuanto al enraizamiento de esquejes en tomate de cáscara Quiroz (1984) demostró que enraízan con facilidad en arena húmeda, siendo solo necesario seleccionar adecuadamente las plantas madre. Por otro lado, García *et al.*, (2001) enraizaron esquejes de diez variedades de tomate de cáscara, aplicando diferentes concentraciones de ácido indolbutírico (AIB), obteniendo excelente respuesta en todos los materiales, destacando las variedades Tamazula, Arandas y CHF1- Chapingo. En general, las concentraciones de AIB más bajas fueron las de mejor respuesta, resultando que a medida que se incrementó la concentración, la longitud de raíces y el enraizamiento disminuyó; menciona que a los 18 días después de establecidos los esquejes en la cama de enraizamiento, obtuvieron plantas con raíces completamente formadas, aptas para ser trasplantadas.

2.5 MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se llevó acabo en febrero de 2003 en las instalaciones del Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales del Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo, Texcoco, Estado de México.

2.5.1 Material Biológico

Los materiales genéticos base de la presente investigación fueron los progenitores clonados de cinco híbridos planta a planta provenientes de las variedades CHF1 Chapingo y Verde Puebla (Santiaguillo, 2003), que se encuentran en el laboratorio anteriormente citado. La investigación se llevó a cabo en tres fases, que correspondieron a los objetivos generales de este trabajo, en el presente capítulo sólo se desarrolla la primera fase:

Micropropagación de clones.

Se realizó basado en el protocolo para la micropropagación *in vitro* de tomate de cáscara desarrollado por el M.C. Alejandro Manzo González en el Laboratorio de Cultivos de Tejidos Vegetales del Departamento de Fitotecnia, (Manzo *et al.*, 1998). Se incrementaron diez clones (Cuadro 2.5.1), que son los progenitores de los cinco híbridos planta a planta antes señalados.

Cuadro 2.5.1. Descripción del material vegetal micropropagado

Clon	Variedad de origen	Cruzas interclonales
I	CHF1 Chapingo	I x II
II	Verde Puebla	II x I
III	CHF1 Chapingo	III x IV
IV	Verde Puebla	IV x III
V	CHF1 Chapingo	V x VI
VI	Verde Puebla	VI x V
VII	CHF1 Chapingo	VII x VIII
VIII	Verde Puebla	VIII x VII
IX	CHF1 Chapingo	IX x X
X	Verde Puebla	X x IX

Tomado de Santiaguillo 2003.

La fase de incremento de clones se inició en febrero del 2003. Ésta se realizó bajo condiciones asépticas, los clones se sembraron en una cámara de aire filtrado de flujo horizontal, que previamente se limpió con alcohol al 96 %, y la incubación se hizo en el área correspondiente del laboratorio.

2.5.2 Medio de cultivo

El medio de cultivo empleado fue el de Murashige y Skoog (MS) (1962), adicionando sacarosa mediante azúcar comercial al 3 %, ajustando el pH en 5.7 y agar (Merk[®]) al 7 % (Cuadro 2.5.2)

Cuadro 2.5.2. Componentes del medio de cultivo de Murashige y Skoog (MS).

Compuesto	Concentración (mg·l ⁻¹)
Macronutrientes	
NH ₄ NO ₃	1,650
KNO ₃	1,900
CaCl ₂ · 2H ₂ O	440
MgSO ₄ · 2H ₂ O	370
KH ₂ PO ₄	170
Micronutrientes	
MnSO ₄ · 2H ₂ O	16.90
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	8.60
H ₃ BO ₃	6.20
KI	0.83
NaMoO ₄ · 2H ₂ O	0.25
CuSO ₄ · 7H ₂ O	0.025
CoCl · 7H ₂ O	0.025
NaEDTA · 2H ₂ O	37.30
FeSO ₄ · 7H ₂ O	27.80
Compuestos orgánicos	
Tiamina HCl	0.4
Ácido nicotínico	0.5
Piridoxina	0.5
Glicina	2.0
Inositol	100.0

Fuente: Murashige y Skoog (1962)

Se eligió el medio de cultivo MS simple, ya que no se conocía con precisión el número de subcultivos a los que se expusieron los materiales con anterioridad, tampoco los reguladores a los que se habían sometido, a fin de evitar posibles variantes en el genotipo de los materiales incrementados. Aunado a lo anterior y tal como describe Pierik (1990), el método de yemas axilares ofrece muchas ventajas, entre las que podemos enunciar que: resulta ser el método más simple de microprogación; la velocidad de multiplicación es relativamente alta, y mantiene la estabilidad genética. Este punto es el más importante dado los objetivos que de la presente investigación, pues los clones

son progenitores de híbridos interclonales planta a planta y es indispensable mantener su genotipo a fin de poder formar el mismo híbrido.

2.5.3 Condiciones de incubación

Los propágulos sembrados fueron llevados a la sala de incubación, durante 5 semanas, con iluminación a $150 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ y un fotoperiodo de 16 horas luz con temperatura aproximada de 26° C en el día y 24° C durante la noche.

2.5.4 Incremento del material vegetal

Se transplantaron bajo condiciones asépticas pequeños propágulos de los clones correspondientes en tubos de ensayo, que contenían 20 ml del medio de cultivo descrito con anterioridad. Los propágulos sembrados contenían al menos dos yemas axilares, a fin de incrementar el porcentaje de prendimiento del material propagado. Posteriormente fueron llevados a la sala de incubación descrita en la sección anterior, donde permanecieron en promedio cinco semanas para su desarrollo antes de ser incrementados nuevamente.

2.6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.6.1 Incremento *in vitro* de los diez clones de tomate de cáscara

Se realizaron tres incrementos con el medio MS descrito. Como el número de explantes incrementados por clon no era el mismo, ya que se contaba con diferente números de plantas desde un principio, se consideró el promedio de longitud de tallo (LT), diámetro de tallo (DT) y número de yemas (NY); para realizar el análisis estadístico, cada incremento se tomó como una repetición; así, se estableció en un diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones. Los caracteres antes descritos fueron evaluados a los 35 días después de la siembra (Cuadro 2.6.1).

Cuadro 2.6.1. Tasa de multiplicación y crecimiento de diez clones de tomate de cáscara.

Clon	Primera repetición			Segunda repetición			Tercera repetición		
	Longitud de tallo	Diámetro de tallo	Número de yemas	Longitud de tallo	Diámetro de tallo	Número de yemas	Longitud de tallo	Diámetro de tallo	Número de yemas
I	5.5	1.3	3.4	5.9	1.1	8.4	7.8	1.7	3.5
II	3.6	1.5	4.8	2.9	1.4	7.3	5.1	1.8	4.0
III	3.5	1.2	3.9	2.2	1.2	5.4	4.1	2.0	4.9
IV	5.2	1.4	3.7	4.0	1.3	4.6	4.4	1.6	4.8
V	2.6	1.3	3.2	2.6	1.2	7.5	3.7	1.8	3.8
VI	5.1	1.3	5.1	2.9	1.2	6.7	4.2	2.0	5.3
VII	3.1	1.3	3.2	2.4	1.1	5.0	5.5	2.0	5.8
VIII	7.1	1.4	6.8	5.7	1.2	6.4	7.0	2.4	6.7
IX	3.5	1.3	4.0	2.5	1.1	5.3	5.0	1.5	4.4
X	4.5	1.4	5.5	4.2	1.2	6.7	6.0	1.6	6.4

Longitud de tallo (LT), diámetro de Tallo (DT) y número de yemas (NY)

Los resultados del análisis de varianza (Cuadro 2.6.2) mostraron diferencias significativas ($\alpha = 0.05$) entre medias de longitud de tallo (LT) tanto en clones como en repeticiones, aunque no así para las variables diámetro de tallo (DT) y

número de yemas (NY) que sólo manifestaron diferencia estadísticamente significativas entre repeticiones. Por otra parte, los coeficientes de variación son relativamente bajos, lo que indica la consistencia de los datos. Estos resultados sugieren que las tasas de crecimiento entre los materiales difieren significativamente, ya que en esta especie cada planta incluso dentro de la misma variedad constituye un genotipo diferente, dado su condición de alógama obligada (Peña y Márquez, 1990).

Cuadro 2.6.2. Cuadrados medios del análisis de varianza para longitud de tallo (LT), diámetro de tallo (DT) y número de yemas (NY) en diez clones de tomate de cáscara micropropagados.

	F.V.	G.L.	LT	DT	NY
Repeticiones		2	7.66 *	1.13 *	10.19 *
Clones		9	4.63 *	0.03	1.69
CHF1 Chapingo vs. Verde Puebla		1	1.04	0.00	3.40
Error		18	0.42	0.02	1.18
CV (%)			14.83	11.44	20.89
R ²			0.88	0.83	0.62

F.V.: fuentes de variación; C.V.: coeficiente de variación (%); Chapingo vs. Verde Puebla: contraste entre clones de la variedad CHF1 Chapingo y clones de la variedad Verde Puebla; G.L.: grados de libertad; LT: longitud de tallo; DT: diámetro de tallo; NY: número de yemas; *: significancia con $\alpha = 0.05$.

La comparación de medias de Tukey ($\alpha=0.5$) para los diez clones muestra diferencias importantes. Para LT, los clones VIII y I se manifestaron como los mejores, con medias de 6.6 y 6.4 cm respectivamente, mientras que los clones III y V fueron los que menos desarrollo mantuvieron con medias de 3.2 y 2.9, respectivamente. En cuanto a los promedios de clones por variedad se observa un mejor desarrollo en esta variable para la variedad Verde Puebla. Así mismo,

y a pesar que estadísticamente no existen diferencias entre clones, se aprecia que para DT el clon VIII (1.667 cm) desarrolló más tallo y el que menos desarrollo presentó fue el IX (1.300 cm). Para NY considerada como indicador de la tasa de multiplicación, el clon VIII sobresale con media de 6.633 yemas, siendo el peor el IV con media de 4.366 yemas, a pesar que estadísticamente son iguales con el resto de los clones. De acuerdo con lo anterior se aprecia que el clon VIII tiene una alta tasa de multiplicación y desarrollo, siendo los clones IX, V, III y IV los de menor desarrollo.

Cuadro 2.6.3. Medias para tres caracteres de 10 clones micropropagados *in vitro* de tomate de cáscara.

Clon	LT (cm)	DT (cm)	NY
VIII	6.600 a	1.667 a	6.633 a
I	6.400 ab	1.366 a	5.100 a
X	4.900 abc	1.400 a	6.200 a
IV	4.533 bcd	1.433 a	4.366 a
VI	4.066 cd	1.500 a	5.700 a
II	3.866 cd	1.566 a	5.366 a
VII	3.666 cd	1.466 a	4.666 a
IX	3.666 cd	1.300 a	4.566 a
III	3.266 cd	1.466 a	4.733 a
V	2.966 d	1.433 a	4.833 a
DMS	1.908	0.4892	3.1916
CHF1 Chapingo	3.980	1.400	4.777
Verde Puebla	4.790	1.510	5.650

LT, DT, NY: longitud de tallo, diámetro de tallo y número de yemas; CHF1 Chapingo: promedio de clones de la variedades CHF1 Chapingo; Verde Puebla: promedio de clones de la variedades Verde Puebla; DMS: diferencia mínima significativa (Tukey, $\alpha = 0.05$); medias con la misma letra en sentido vertical son estadísticamente iguales.

Considerando las unidades de medición empleadas para las variables DT y NY y el estrecho margen entre ellas es posible que el modelo no detecte

diferencias; sin embargo, tanto en vigor (DT), porte (LT) y número de hojas y yemas (en tomate de cáscara existe una yema por hoja) como en color de la planta (datos visuales no presentados), se aprecian diferencias entre los diferentes clones, tanto entre como dentro de variedades (Cuadro 2.6.1 y 2.6.2), lo que se debe a que la especie es alógama y por ende cada planta tiene un genotipo diferente.

Con base en los resultados obtenidos, se concluye que para cada material incrementado bajo la técnica de propagación *in vitro* de yemas axilares, se requiere de un protocolo específico, pues considerando que en esta especie cada planta, incluso siendo de la misma variedad, constituye un genotipo diferente, cabe esperar se tenga una diferente respuesta en cada uno de los materiales. Además, en cada fase de desarrollo se observó diferente respuesta en cada material; de forma tal, que para lograr un incremento masivo de diferentes clones, debe requerirse un protocolo específico para cada uno, donde el desarrollo sea similar entre los materiales micropropagados y puedan llevarse a la fase de aclimatación la misma cantidad de clones, que garantice la sobrevivencia de un número equivalente de cada uno, pues al igual se espera que en esta fase la respuesta sea diferente.

La producción de semilla híbrida en tomate de cáscara es difícil debido a la autoincompatibilidad (Pandey, 1957). Si bien es posible obtener dihaploides mediante el cultivo de anteras, los avances son limitados al respecto (Ortuño *et al.*, 1998). Así mismo, la posibilidad de obtener “híbridos” interclonales planta a planta, que en dado caso correspondería a un tipo de cruce doble asumiendo

que cada planta es en si misma un híbrido de cruza simple, es real (Santiaguillo *et al.*, 2004). El uso de esta técnica de manera comercial requiere una multiplicación eficiente *in vitro* de los progenitores. Se pudiera pensar que no existiera diferencia en la multiplicación de clones, pero los datos obtenidos muestran que sí las hay, por lo que es necesario considerarlas antes de emprender un programa masivo de multiplicación de clones de un híbrido con fines de realizar la cruza y producir su semilla, aspecto que sin duda tiene relación con el posible éxito.

2.7 CONCLUSIONES

Con base en los resultados y su discusión se concluye:

- 1) Los clones evaluados presentan diferencias en crecimiento y tasa de multiplicación, tanto entre variedades como dentro de ellas.
- 2) Se requiere determinar un protocolo de micropropagación *in vitro* específica para cada clon progenitor de un híbrido, antes de iniciar su incremento masivo para producir semilla.

2.8 LITERATURA CITADA

- Bidwell, R. G. S. 1990. Fisiología vegetal. AGT Editor. México, D.F. 784 p.
- Boutherin, D. y Bron, G. 1994. Multiplicación de plantas hortícolas. ACRIBA. Zaragoza, España. 225 p.
- Debergh, P. C. 1991. Acclimatization Techniques of plant from *in vitro*. Acta Horticulturae 289:291-300.
- Debergh, P. C. and L. J. Maene. 1981. A scheme for commercial propagation of ornamental plants by tissue culture. Scientia Hort. 14: 335-345.
- García V., A. 1976. Citotaxonomía del tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.), avances en la investigación, 1975-1976. Colegio de Postgraduados. ENA. Chapingo, México.
- García L., D.; W. Jiménez J.; A. Peña L.; J. E. Rodríguez P. 2001. Propagación vegetativa de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) mediante enraizamiento de esquejes. Agricultura Técnica en México 27(1): 27-33.
- Hartmann, H. T., D. E. Kester, and F. T. Davies. 1990. Techniques of *in vitro* culture for micropagation. In: Plant Regeneration Principles and Practices. H Hartmann T., D. Kester E. and F. Davies T. (eds.) . Fifth Edition. Prentice Hall New jersey. Pp: 446-525.
- Hurtado V., M. D. y M. E. Merino M. 1988. Cultivo de tejidos vegetales. Sexta reimpresión. Editorial Trillas. México D. F. 232 p.
- Mageau, O. C. 1993. Laboratory design. In: Micropropagation: Technology and Application. P. Debergh C. and R. Zimmerman H. (eds.). Second Edition. Kluwer Academic Publishers. Pp: 16-29.

- Manzo G., A.; A. Ledesma H.; J. C. Villatoro L.; I. Álvarez E.; J. L. Rodríguez D.; A. Peña L. 1998. Regeneración *in vitro* de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). Revista Chapingo Serie Horticultura 4(1): 45-49.
- Margara, J. 1988. Multiplicación Vegetativa y Cultivo *in vitro*. Los Meristemos y la Organogénesis. Ed. Mundi-Prensa. Madrid. 232 p.
- Messiaen, C. M.; D. Blancard; F. Rouxel; R. Lafon. 1995. Enfermedades de las hortalizas. Ed. Mundi-Prensa. Madrid, España. 576 p.
- Murashige, T. 1974. Plant propagation through tissue cultures. Ann. Rev. Plant Physiology 25: 135.
- Murashige, T. y F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays of tobacco tissue culture. Physiol. Plant 15: 473-497.
- Ortuño, O. L.; A. Manzo G.; A. Peña L. 1998. Cultivo de anteras en tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). Revista Chapingo Serie Horticultura 4(1): 39-43.
- Pandey, K. K. 1957. Genetics of self incompatibility in *Physalis ixocarpa* Brot: a new system. Amer. J. Bot. 44: 879-887.
- Pastelín S., M. C. 1999. Morfogénesis *in vitro* del árbol del neem o margosa (*Azadirachta indica* A. Juss). Tesis de Maestría en Ciencias. Especialidad en Genética. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Estado de México. 112 p.

- Peña L., A. y F. Márquez S. 1990. Mejoramiento Genético del tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot). Revista Chapingo Serie Horticultura 71/72: 84-88.
- Peña L., A. y J. F. Santiaguillo H. 1998. Variabilidad genética de tomate de cáscara en México. Boletín Técnico # 2. Programa Nacional de Investigación en Olericultura. Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 26 p.
- Peña L., A.; 1998. Parámetros genéticos, respuesta a la selección y heterosis en tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). Tesis de Doctorado. Colegio de Postgraduados, Montecillo Estado de México. 151 p.
- Peña L., A.; J. D. Molina G.; T. Cervantes S.; F. Márquez S; J. Sahagún C.; J. Ortiz C. 1998. Heterosis intervarietal en tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) Revista Chapingo Serie Horticultura 4(1): 31-37.
- Pérez G. M., F. Márquez S. y A. Peña L. 1998. Mejoramiento Genético de Hortalizas. 2ª ed. Ed. Mundi- Prensa México. México. 380 p.
- Pierik, R., L.M. 1990. Propagación *in vitro* de las plantas superiores. Ed. Mundi Prensa. Madrid. 326 p.
- Quiroz, F.C. 1984. Overview of the genetics and breeding of usk tomato. Hortscience. 19(6): 872-874.
- Ramírez, R. and N. Ochoa. 1991. Adventitious shoot formation and plant regeneration from tissues of tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.). Plant Cell, Tissue and Organ Culture 25: 185-188.
- SAGARPA. 2000. Estadísticas básicas agropecuarias. SAGARPA. México.

- Santiaguillo H., J. F.; R.López M. ; A. Peña L.; J. A. Cuevas S.; J. Sahagún C. 1994. Distribución, colecta y conservación de germoplasma de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). Revista Chapingo Serie Horticultura 2: 125-129.
- Santiaguillo H., J. F.; T. Cervantes S.; A. Peña L. 2004. Selección para rendimiento y calidad de fruto de cruza planta x planta entre variedades de tomate de cáscara. Revista Fitotecnia Mexicana 27(1): 85-91.
- Santiaguillo H., J. F. 2003. Cruzas intervarietales planta a planta, enraizamiento de esquejes y polinización controlada en tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) Tesis de Doctorado. IREGEP. Genética. Colegio de Postgraduados, Montecillo Estado de México. 85 p.
- Saray, M. y J. Loya R. 1977. El cultivo de tomate de cáscara. Algunos aspectos sobre su fisiología en investigación. Campo Agrícola Experimental Zacatepec. CIAMEC-INIA, SARH, (mimeografiados).
- Vieitez M., A. M., A-P. A. Ballester, M. L. Vieitez M., M. C. San José C., F. J. Vieitez M., y C. E. Vieitez. 1987. Propagación de Plantas Leñosas por cultivo *in vitro*. Ed. EXCMA. Diputación de Pontevedra, España. Pp: 19-31.
- Weaver, R.J. 1990. Reguladores de crecimiento de las plantas en la agricultura. Trillas. México. D. F., México. 662 p.

3. ACLIMATIZACIÓN Y CULTIVO EN CONDICIONES DE INVERNADERO DE CLONES DE TOMATE DE CÁSCARA (*Physalis ixocarpa* Brot.) MICROPROPAGADOS *in vitro* Y OBTENCIÓN DE SEMILLA

3.1 RESUMEN

El cultivo *in vitro* requiere una metodología específica para cada especie e incluso para cada cultivar o variedad dentro de la misma especie, que garantice el buen desarrollo y tasa de multiplicación. Lo anterior también aplica para el proceso de adaptación de las plantas que son micropropagadas, ya que las plantas cultivadas *in vitro* frecuentemente muestran problemas para controlar la pérdida de agua cuando son transferidas de los recipientes de micropropagación a las nuevas condiciones de desarrollo. Así, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el proceso de adaptación a condiciones de invernadero de 10 clones de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) incrementados *in vitro* (cinco de la variedad CHF1 Chapingo y cinco de Verde Puebla) y obtener semilla de los cinco híbridos interclonales. Se acondicionaron microtuneles con sistema de nebulización y se seleccionó las plantas más vigorosas. De las variables estudiadas, sólo se encontró diferencia significativa entre clones para porcentaje de plantas sobrevivientes. Para la que el clon IV fue el mejor material (92 %); por otra parte, el clon IX presenta problemas de adaptación con apenas el 61 % de plantas sobrevivientes. Contrastando el promedio de clones de cada variedad, no se encontraron diferencias significativas en los cuatro caracteres estudiados. Se concluyó que el proceso

de aclimatación al invernadero de plantas provenientes de cultivo *in vitro*, fue eficiente (79 %).

3.2 ABSTRACT

Micropropagation *in vitro* requires a specific methodology for each specie and each cultivar or variety within the same specie to guarantee good performance and multiplication rate. This also applies for the micropropagate plant adaptation process since this kind of plants frequently show problems to control the water lost by the time they are transferred from the micropropagation post to the new development conditions. The objective of this research was to evaluate the adaptation process in the greenhouse conditions of 10 husk tomato clones *in vitro* propagated (five from CHF1 Chapingo variety and five from Verde Puebla variety) and to obtain seed of the five intercloned hybrids. Microtunnels were spray system adapted and the mainly vigorous plants were selected. There was a significant difference among clones for surviving plants percent trait, where the clone IV had the highest result (92 %); on the other hand, clone IX showed adaptations problems since score 61 % of surviving plants. Comparing clones is means of each variety, significant differences were not observed in the four studied traits. The greenhouse acclimatization process for surviving micropropagated plants was efficient (79 %).

3.3 INTRODUCCIÓN

La autoincompatibilidad del tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) hace que ésta sea una especie alógama obligada, formada por poblaciones heterocigóticas heterogéneas que hace que los métodos aplicables para su mejoramiento genético a través de semilla sean pocos. Entre los métodos de mejoramiento más apropiados para esta especie están: la selección masal, familiar de medios hermanos y combinada de medios hermanos. Sin embargo, mediante la reproducción asexual y con la ayuda de las técnicas de cultivo de tejidos se abren nuevas alternativas; si bien existe la posibilidad de obtener líneas dihaploides mediante el cultivo de estructuras reproductivas (anteras u ovarios), también se pueden obtener híbridos mediante la cruce planta a planta de clones micropropagados. Otra alternativa relacionada con la hibridación es el enraizamiento de esquejes, aunque ninguno de estos métodos se han realizado en forma extensiva hasta obtener semilla híbrida.

Cabe hacer mención que el empleo de técnicas de micropropagación requiere una metodología específica para cada especie e incluso para cada cultivar o variedad dentro de la misma especie, como se observa en el capítulo anterior, que garantice el buen desarrollo y tasa de multiplicación, por lo que se requiere el conocimiento preciso de todos los factores que intervienen en dicho proceso. Lo anterior también es cierto para el proceso de adaptación de las plantas que son micropropagadas, ya que las plantas cultivadas *in vitro* frecuentemente muestran problemas para controlar la pérdida de agua cuando son transferidas de los recipientes de micropropagación a las nuevas

condiciones de desarrollo, pues el objetivo final es que estas plantas puedan desarrollarse satisfactoriamente en las condiciones de humedad relativa, intensidad de luz y temperaturas ambientales que imperan en el campo.

La aclimatización es un proceso regulado por el hombre para adaptar un organismo a un cambio ambiental. La transferencia de plantas de condiciones *in vitro* a contenedores con sustratos y condiciones de invernadero para su aclimatación es una etapa que puede durar de dos a cinco semanas, en que se pretende adaptar paulatinamente a las plantas para su transferencia posterior a condiciones de campo.

Existen algunos estudios con resultados satisfactorios sobre la capacidad de regeneración *in vitro* de planta de tomate de cáscara, así como el efecto que tiene el genotipo, la composición química del medio de cultivo, las condiciones físicas ambientales, la desinfección del material vegetal y el proceso de adaptación a condiciones de invernadero. Sin embargo, éstos no han sido aplicados en una producción extensiva. En este trabajo se plantearon los siguientes objetivos: adaptar a condiciones de invernadero los clones incrementados *in vitro* (cinco de la variedad CHF1-Chapingo y cinco de Verde Puebla) y obtener semilla de los cinco híbridos interclonales.

3.4 REVISIÓN DE LITERATURA

3.4.1 Micropropagación

La Micropropagación es un tipo de propagación donde se seleccionan genotipos y se incrementan haciendo uso las técnicas de cultivo *in vitro*. Algunas cosas han cambiado desde que Murashige en 1974 propuso tres fases en su protocolo para la Micropropagación de plantas; a medida que se tiene más información, resultado de arduas investigaciones, se han adicionado dos nuevas fases, por lo que en la actualidad se conocen cinco fases críticas para la aplicación de estas técnicas (Deberg y Read, 1993).

Fase cero. Preparación del material madre. Corresponde a la preparación del material *in vivo* y se desarrolla antes de comenzar el proceso de micropropagación. Esta etapa consiste básicamente en la selección y cuidado del material madre (plantas donadoras), generalmente se realiza bajo condiciones de invernadero, con el fin de mantenerlos vigoroso y libre de enfermedades, dado que es más fácil controlar factores ambientales de temperatura, luz, humedad relativa, nutrición y sanidad. Esta fase repercute trascendentalmente en la capacidad de supervivencia del material propagado (Deberg y Maene, 1981).

Fase 1. Establecimiento del cultivo aséptico. Consiste en la desinfección superficial del material seleccionado con el empleo de diferentes compuestos desinfectantes, como son: hipoclorito de sodio, hipoclorito de calcio, peróxido de hidrógeno, cloro comercial, cloruro de mercurio, nitrato de plata y alcohol a

diferentes concentraciones. Una vez realizada la desinfección del material, éste es colocado en un medio de cultivo para que se desarrolle el explante

Fase 2. Multiplicación del material vegetal mediante subcultivos de diferentes órganos. El objetivo de esta fase es conseguir la formación de órganos (organogenesis) o embriones somáticos (embriogenesis) capaces de dar lugar a nuevas plantas intactas sin perder su identidad genética. Con la manipulación de niveles hormonales en el medio de cultivo se pueden obtener brotes (vástagos), callos, yemas adventicias o axilares, que posteriormente se subcultivan en un medio adecuado para obtener plantas completas (Murashige, 1974; Debergh y Maene, 1981). En esta fase es importante considerar aspectos como: a) número de subcultivos dada la susceptibilidad del material a sufrir cambios con el tiempo; b) sistema de propagación, que se refiere al tipo de explante y la tasa de propagación a utilizar; y c) condiciones ambientales, pudiendo considerar desde el recipiente donde crece el explante hasta las condiciones de la sala de incubación (Murashige, 1978; Debergh y Read, 1993).

Fase 3. Elongación de brotes y enraizamiento *in vitro*. Se subdivide en dos: a) Alargamiento de brotes. Los brotes o pequeñas plántulas producidos en la etapa dos son muy pequeños e incapaces de desarrollarse en el suelo, de ahí la necesidad de que crezcan para que puedan ser usados como material para micropropagación *in vitro* o como esquejes *in vivo*. Para tal crecimiento (elongación) se requiere un medio con bajo nivel de citocininas y una alta intensidad lumínica. Los brotes así alargados pueden ser directamente transferidos para su enraizamiento (Debergh y Maene, 1981); b) Enraizamiento

in vitro. Se refiere al enraizamiento de brotes para que puedan ser transferidos a condiciones de suelo. Algunas especies forman raíces adventicias durante el alargamiento del brote, pero otras necesitan que se induzcan posteriormente con un medio determinado. Para dicha inducción se requiere cambiar el balance hormonal, por lo general disminuyendo citocininas y aumentando las auxinas (Murashige, 1978; Vieitez *et al.*, 1987; Debergh y Read, 1993).

Fase 4. Aclimatación de las plántulas a condiciones de invernadero. Esta fase comprende la transferencia de los brotes obtenidos *in vitro* de un medio de cultivo aséptico al ambiente de invernadero y posteriormente a su sitio definitivo en el campo, ya sea con brotes enraizados o sin enraizar. En cualquiera de los casos, para que las plántulas puedan sobrevivir deben pasar por un periodo de aclimatación, en el que deben convertirse en autótrofas, creciendo y aumentando su resistencia a la desecación mediante el desarrollo de su cutícula, y al ataque de patógenos. Esta es la etapa final dentro de la técnica de Micropropagación (Hurtado, 1987; Hartmann *et al.*, 1990) y también el objetivo del presente trabajo.

3.4.2 Fase IV. Aclimatización de plantas Micropropagadas

La adaptación a condiciones *in vivo* involucra aspectos anatómicos y fisiológicos de las plántulas, así como los factores físicos (Pierik, 1990). Las plántulas cultivadas *in vitro* generalmente tienen la cutícula (capa de cera) escasamente desarrollada, debido a la alta humedad relativa (90 a 100 %) que se da *in vitro*. Como consecuencia, cuando se saca la plántula del laboratorio se

produce una transpiración cuticular extra, ya que la humedad del aire en las condiciones *in vivo* es más baja. Las hojas de una plántula producida *in vitro* son frecuentemente finas, blandas y fotosintéticamente poco activas; y por ello mal adaptadas a las condiciones naturales. Las plántulas producidas mediante la micropropagación tienen las células del mesófilo, que son las fotosintéticas, más pequeñas y en menor cantidad. Los estomas de las plántulas *in vitro* pueden no ser suficientemente operativos, de manera que permanecen abiertos cuando la plántula ha pasado al suelo, lo que puede ser origen de un importante estrés hídrico durante las primeras horas de aclimatación. Es importante tomar en cuenta que las plántulas *in vitro* han sido cultivadas como heterótrofas, al proporcionarles el azúcar exógenamente (medio de cultivo), y que deben convertirse en autótrofas *in vivo* pues el azúcar debe ser producido por medio de la fotosíntesis. La aclimatación puede lograrse permitiendo a las plántulas *in vitro* habituarse de forma gradual a una humedad relativa más baja, como la que encontrarán *in vivo*. El desarrollo del mecanismo de cierre estomático es un componente muy importante en el proceso de aclimatación (Pierik, 1990).

Las raíces que se originan *in vitro* son vulnerables y no funcionan de forma adecuada *in vivo* (no tienen o tienen pocos pelos radicales), por lo que mueren rápidamente, debiendo ser sustituidas por nuevas raíces subterráneas. Un desarrollo pobre del sistema radical hace que el crecimiento *in vivo* se haga muy difícil, especialmente cuando hay una elevada transpiración (Pierik, 1990).

El uso de fuentes de carbono exógeno tienen efecto directo sobre el contenido de las enzimas responsables de la fotosíntesis, ya que el contenido

de Rubisco aumenta en las hojas de las plántulas que crecen en un medio de cultivo enriquecido con sacarosa, en contraste con las que se desarrollaron en un medio enriquecido con fructosa o glucosa (Nielsen *et al.*, 1991).

Wainwright y Marsch (1986) afirman que los niveles de sacarosa en el medio de cultivo previo al trasplante a suelo, provoca que la concentración de carbohidratos almacenados en las hojas aumente, lo que a su vez incrementa la cantidad de energía disponible para el crecimiento y desarrollo de nuevas estructuras, favoreciendo así que la planta asuma una condición autótrofa más rápidamente.

La difusión de gases en plántulas desarrolladas *in vitro* dependen de la especie y de la humedad relativa del ambiente durante el proceso de aclimatación de las plántulas; la apertura de los estomas ayuda al enfriamiento de las hojas evitando las quemaduras por altas temperaturas (Desjardins, 1995). Este autor considera que existen dos tipos de plantas en cuanto a su actividad fotosintética *in vitro*: las que no muestran actividad fotosintética y las que si fotosintetizan, que tienen una mayor facilidad para adaptarse a una condición fotoautotrófica.

Durante el desarrollo *in vitro*, la humedad relativa es muy alta y las plántulas tienen una baja transpiración; por ello, se requiere de un cambio gradual de alta a baja humedad durante la adaptación, para evitar la marchitez y eventualmente la muerte de plántulas.

La humedad relativa puede mantenerse con el uso de nebulización o microaspersión intermitente. En general se recomienda que las plántulas

producidas *in vitro* una vez trasplantadas, se mantengan en un ambiente cerrado para inducir con mayor eficiencia una humedad relativa alta, sin necesidad de incrementar el contenido de humedad del sustrato que pueda ocasionar problemas fúngicos (Wardle *et al.*, 1993).

Durante el periodo de adaptación, las plantas se desarrollan mejor entre 20 y 27°C; las temperaturas más bajas o más altas y las fluctuaciones muy drásticas pueden dar como resultado un crecimiento muy irregular. Se recomienda regular la temperatura con un termostato y con instalaciones completamente automatizadas; es decir, en invernaderos con un muro húmedo, extractores y calefacción (Wardle *et al.*, 1983; Granada, 1985).

Se ha observado que las plantas producidas por cultivo de tejidos una vez trasplantadas, muestran un mejor desarrollo y mayores porcentajes de supervivencia si al principio se mantienen a intensidades lumínicas bajas, alrededor de 15 Klux. Por otra parte, el fotoperiodo debe mantenerse, si es necesario, igual que el laboratorio durante todo el periodo de adaptación. Para regular la intensidad lumínica en el invernadero se recomienda utilizar mallas de sombreo apropiadas (Granada, 1985).

Ocasionalmente se ha recomendado colocar los recipientes de los cultivos en el invernadero por algunos días antes de sacar las plántulas, con la finalidad de lograr una pre-adaptación a los regímenes de luz y temperatura que prevalecerán en el invernadero durante el trasplante (Wardle *et al.*, 1983; Granada, 1985).

3.4.3 Factores que intervienen en la fase de acondicionamiento de plantas micropropagadas

Las plantas micropropagadas presentan las siguientes características:

- a) Dificultad para controlar la pérdida de agua al trasladarse a condiciones *in vivo*. Ésto debido a la tensión causada por la pérdida de agua, principalmente mediante la transpiración de hojas. Las plantas derivadas del cultivo de tejidos generalmente tienen una anatomía diferente a las plantas propagadas por técnicas convencionales, debido a que presentan una cutícula más delgada (Orozco, 1993).
- b) Alteraciones de anatomía de las hojas, tallos y raíces. En estudios histológicos con microscopio de luz, se detectó que las hojas de plantas crecidas *in vitro* son más delgadas y poseen un menor desarrollo de la capa de células de empalizada, además de mayores espacios aéreos en el mesófilo, al compararse con plantas cultivadas en invernadero.
- c) Alteraciones en la fotosíntesis. Cuando las plantas de una especie determinada son forzadas a cambiar de una condición heterotrófica a autotrófica, el proceso de fotosíntesis se convierte en un aspecto de vital importancia para la supervivencia. En plantas cultivadas *in vitro* se han registrado bajas tasas de fotosíntesis al compararse con las crecidas en campo o invernadero. En algunos casos la actividad fotosintética puede ser tan baja que el balance de carbono es negativo. Una vez que las plantas son transferidas a condiciones de suelo, tienden a restaurar su capacidad

fotosintética normal; sin embargo, la restauración puede durar 15 días o más, dependiendo de la especie (Orozco, 1993).

3.4.4 Biología floral y polinización en tomate de cáscara

Estructura Floral. Las flores en esta especie son bisexuales, perfectas o hermafroditas; son solitarias y salen de la dicotomía de las ramas; son pequeñas, pentámeras, con bordes de color amarillo brillante; las anteras azules o azul verde; la corola de 1 a 2.69 cm de diámetro; su color es amarillo aunque algunas veces es púrpura y descolorida en el centro; acampanulada o circular; lóbulos plegados; estambres insertados en la base de la corola; el estigma presenta dos hendiduras, casi bilobulado (Saray y Loya, 1977; Pérez *et al.*, 1998).

Biología floral. La diferenciación de las primeras yemas florales se lleva acabo entre los 17 y 20 días después de la siembra, apareciendo las primeras flores entre los 28 y 30 días, la planta continua floreciendo hasta su muerte (Pérez *et al.*, 1998).

Dada la condición de alógama obligada que presenta esta especie, la polinización natural es llevada acabo principalmente por insectos, siendo las abejas las que más realizan esta labor. Por otra parte, la polinización artificial se puede dar manualmente o bien con abejas.

La polinización manual la describe Pérez *et al.* (1998) en cinco fases: 1) Selección de los botones florales que se vayan a polinizar, esto debe realizarse por la tarde, el botón debe estar hinchado y con el indicio de la aparición de los

pétalos; 2) Cubrir los botones florales (con bolsitas glassine y la ayuda de una engrapadora); 3) Revisar a la mañana siguiente si el botón floral ha abierto; si lo está se procede a polinizar la flor con el polen deseado. La flor de tomate produce abundante polen y con solo frotar las anteras en el pistilo es suficiente. Esta operación debe llevarse a cabo entre las 8 y 10 de la mañana para tener mayor posibilidad de éxito; 4) Se cubren las flores polinizadas y se etiquetan; 5) Cuando se observa que el fruto ya amarró, se quita la cubierta de glassine para favorecer su desarrollo.

3.5 MATERIALES Y MÉTODOS

3.5.1 Proceso de adaptación en invernadero

Esta fase de la investigación se llevó a cabo en uno de los invernaderos del Postgrado de Horticultura de la Universidad Autónoma Chapingo, en Chapingo, México. Se acondicionaron microtuneles con sistema de nebulización y timer que irrigaba durante cinco minutos cada hora y media, comenzando a las nueve de la mañana el primer riego y el último a las siete y media de la noche (8 riegos por día). De esta manera se emulaban las condiciones que presentan dentro de los tubos de ensayo durante su incremento e incubación en el laboratorio. Adicionalmente se colocó sobre los microtuneles una malla sombra (50 %) para evitar el paso de luz.

Se seleccionaron las plantas más vigorosas, que debían presentar algunas raíces formadas, al menos doce centímetros de longitud en el tallo y seis hojas fotosintéticamente activas, además de no presentar síntomas claros de senescencia.

Se preparó el sustrato con Peat Moss (3/4) y Vermiculita (1/4) a fin de brindar mayor porosidad y aireación en la zona radicular, se llenaron vasos de poliestireno del número 12 y se saturó con agua corriente.

Se preparó una solución con los funguicidas Benlate[®] ($10 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$) y Captan[®] ($10 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$) y se sumergieron las plantas extraídas de los tubos de ensayo durante 5 minutos para prevenir el desarrollo de hongos. Posteriormente se enjuagaron las plantas con agua corriente, limpiando perfectamente las raíces

de cualquier grumo de agar impregnado. Se empapó las incipientes raíces con Radix® 1000 y se colocó cada planta en un vaso con sustrato identificándolo plenamente.

Puesto que no todos los clones crecieron en la misma medida, se decidió realizar este proceso en cuatro fechas diferentes a fin de que las plantas reunieran las características antes descritas.

De igual forma se incluyeron datos de los siguientes procesos de adaptación, a fin de tener un mayor número de repeticiones. Se utilizó un diseño de bloques completos al azar con cuatro repeticiones. Las variables medidas fueron: tasa de sobrevivencia o plantas de desarrollo normal (PN), plantas sin desarrollo (PSD) plantas contaminadas por hongos (CF) y porcentaje de plantas sobrevivientes (PPS) a los 21 días del trasplante del tubo de ensaye del laboratorio al vaso con sustrato en el microtúnel del invernadero (Cuadros 3.6.1, 3.6.2, 3.6.3 y 3.6.4).

3.5.2 Proceso de extracción de semilla de los híbridos interclonales

Se trasplantaron 48 plantas de cada uno de los diez clones en bolsas de polietileno negro de 5 kg de capacidad llenadas con tezontle fino. Las plantas de cada clon se clasificaron por tamaño en dos grupos de 24, con lo que se establecieron dos repeticiones para realizar las cruza directas y recíprocas. Se cultivaron bajo condiciones de hidroponía e invernadero en el ciclo otoño invierno del 2003. El riego (automatizado) se aplicó tres veces, con diez minutos

cada uno por día, con solución nutritiva (ver anexo) en un sistema hidropónico sin recuperación de solución.

Se realizó polinización manual acorde con la metodología descrita por Pérez *et al.* (1998). Se colectó polen de las anteras de las flores abiertas durante las primeras horas del día (entre las ocho y las once de la mañana), con la ayuda de un pincel y cajas petri. Los botones florales a polinizar se seleccionaron teniendo en cuenta que estuvieran hinchados y con el indicio de la aparición de los pétalos pero completamente cerrados para evitar posibles contaminaciones de polen; con la ayuda de los dedos se abrió el botón floral a fin de exponer el estilo y la polinización se hizo con un pincel de cerdas suaves impregnado con el polen recolectado en el progenitor macho. Las flores polinizadas se cubrieron con bolsas de glassine, se engraparon y se etiquetó. Cuando el fruto ya había amarrado, se quitó la cubierta de glassine para favorecer su desarrollo. La cosecha se realizó cuando los frutos cambiaron de color verde a amarillo, posteriormente se almacenaron de 25 a 30 días en contenedores de plástico plenamente identificados a fin de que la semilla llegase a su madurez completa, momento en que fue extraída del fruto, secada y almacenada en sobres.

3.6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El proceso de aclimatación de plantas micropropagadas bajo las técnicas *in vitro* comprende la transformación de condiciones heterótrofas a condiciones autótrofas, así como incrementar la resistencia a la desecación y al ataque de patógenos. En este trabajo se establecieron condiciones propicias para que este proceso fuera paulatino. Se tomaron datos a las tres semanas después de que las plantas fueron sacadas del laboratorio; se determinó los números de: plantas de desarrollo normal (PN), plantas sin desarrollo ó muertas (PSD) y de plantas contaminadas por hongos (CF); también se determinó el porcentaje de plantas sobrevivientes (PPS). Los resultados para cada una de las fechas de establecimiento en invernadero se presentan en los cuadros 3.6.1, 3.6.2, 3.6.3 y 3.6.4.

Cuadro 3.6.1. Sobreviviencia, contaminación y plantas sin respuesta al proceso de adaptación de los diez clones incrementados *in vitro* (16 de agosto de 2003).

Clon	Plantas trasplantadas	PN		PSD		CF	
		Número	PPS %	Número	%	Número	%
I	50	44	88	5	10	1	2
II	31	29	94	2	6	0	0
III	56	51	91	3	5	2	4
IV	70	56	80	10	14	4	6
V	20	18	90	1	5	1	5
VI	120	96	80	11	9	13	11
VII	96	71	74	15	16	10	10
VIII	47	41	87	5	11	1	2
IX	35	24	68	8	23	3	9
X	47	43	92	3	6	1	2

PN: plantas de desarrollo normal; PSD: plantas sin desarrollo o muertas; CF: contaminación fungosa; PPS: porcentaje de planta sobrevivientes.

Cuadro 3.6.2. Supervivencia, contaminación y plantas sin respuesta al proceso de adaptación de los diez clones incrementados *in vitro* (23 de agosto de 2003).

Clon	Plantas trasplantadas	PN		PSD		CF	
		Número	PPS %	Número	%	Número	%
I	12	11	92	1	8	0	0
II	8	8	100	0	0	0	0
III	7	7	100	0	0	0	0
IV	8	8	100	0	0	0	0
V	8	8	100	0	0	0	0
VI	10	9	90	1	10	0	0
VII	27	23	85	3	11	1	4
VIII	55	37	67	13	24	5	9
IX	60	38	63	15	25	7	12
X	80	68	85	9	11	3	4

PN: plantas de desarrollo normal; PSD: plantas sin desarrollo o muertas; CF: contaminación fungosa; PPS: porcentaje de planta sobrevivientes.

Cuadro 3.6.3. Supervivencia, contaminación y plantas sin respuesta al proceso de adaptación de los diez clones incrementados *in vitro* (19 de febrero de 2004).

Clon	Plantas trasplantadas	PN		PSD		CF	
		Número	PPS %	Número	%	Número	%
I	80	40	50	32	40	8	10
II	80	40	50	24	30	16	20
III	80	40	50	31	39	9	11
IV	80	75	94	0	0	5	6
V	80	30	38	14	18	36	45
VI	80	60	75	12	15	8	10
VII	80	40	50	15	19	25	31
VIII	80	54	68	15	19	11	14
IX	80	40	50	20	25	20	25
X	80	68	85	4	5	8	10

PN: plantas de desarrollo normal; PSD: plantas sin desarrollo o muertas; CF: contaminación fungosa; PPS: porcentaje de planta sobrevivientes.

Cuadro 3.6.4. Sobreviviencia, contaminación y plantas sin respuesta al proceso de adaptación de los diez clones incrementados *in vitro* (12 de marzo de 2004).

Clon	Plantas trasplantadas	PN		PSD		CF	
		Número	PPS %	Número	%	Número	%
I	80	71	89	0	0	9	11
II	80	67	84	9	11	4	5
III	80	68	85	0	0	12	15
IV	80	76	95	0	0	4	5
V	80	72	90	0	0	8	10
VI	80	74	93	0	0	6	8
VII	80	56	70	0	0	24	30
VIII	80	40	50	20	25	20	25
IX	80	50	63	14	18	16	20
X	80	72	90	5	6	3	4

PN: plantas de desarrollo normal; PSD: plantas sin desarrollo o muertas; CF: contaminación fungosa; PPS: porcentaje de planta sobrevivientes.

Para las tres primeras variables no hubo diferencia significativa entre clones y grupos de clones de cada variedad, pero sí en la variable PPS ($\alpha = 0.05$) que presentó un coeficiente de variación de 15.6 % (Cuadro 3.6.5).

Cuadro 3.6.5. Cuadrados medios de plantas sobrevivientes en el proceso de aclimatización de materiales provenientes de laboratorio. Chapingo, México. 2004.

F.V.	G.L.	PN	PSD	CF	PPS
Repeticiones	3	344.20 *	3149.02 *	366.66 *	1469.49 *
Clones	9	57.61	417.61	62.34	369.79 *
Chapingo vs. Verde Puebla	1	78.40	855.62	108.90	765.62 *
ERROR	27	52.84	296.15	37.35	150.10
CV (%)		90.87	37.76	80.41	15.58
R ²		0.52	0.62	0.62	0.65

F.V.: fuentes de variación; C.V.: coeficiente de variación (%); G.L.: grados de libertad; contrastes entre clones de la variedad CHF1 Chapingo y clones de la variedad Verde Puebla; PN: plantas de desarrollo normal; PSD: planta sin desarrollo o muertas; CF: contaminación fungosa; PPS: porcentaje de plantas sobrevivientes; *: significancia con $\alpha = 0.05$.

En todas las variables se aprecian diferencias no significativas entre medias de efecto de clones, con excepción de PPS, y diferencias significativas entre repeticiones, hecho que obedece a que se tomaron promedios y a la poca uniformidad entre el número de plantas consideradas de cada uno de los materiales por repetición (Cuadro 3.6.5).

En el Cuadro 3.6.6 se observa que para PPS el clon IV tiene la más alta tasa de sobrevivencia. Por otra parte, el clon IX presenta problemas de adaptación con apenas el 61 % en promedio de plantas sobrevivientes. En promedio los clones de la variedad Verde Puebla presentaron significativamente mayor PPS que los de la variedad CHF1 Chapingo (cuadros 3.6.5 y 3.6.6). Estos datos contrastan con lo señalado por Andrade (1998) quien seleccionó los cuatro mejores tratamientos para rizogénesis de la variedad CHF1- Chapingo y los llevó al proceso de adaptación en invernadero, donde se obtuvo un prendimiento de plantas del 100 %. Por otra parte, Cruz y Álvarez (1995) presentan porcentajes de sobrevivencia bajos (68 %) en la primera fecha y de 41 % en la segunda en tomate de cáscara empleando las variedades Salamanca y Tamazula. Estas diferencias pueden deberse a el manejo de las plantas durante el proceso y a la selección de las mismas; sin embargo, el genotipo también influye determinantemente, como lo demuestra la presente investigación, pues habrá que hacer notar que en esta especie incluso dentro de la misma variedad cada planta representa un genotipo diferente, por lo que podrá comportarse también de manera diferente. Este último punto tendría que

demostrase con un mayor número de clones, ya que en esta investigación sólo se emplearon cinco clones diferentes por variedad.

Cuadro 3.6.6. Medias para cuatro caracteres en el proceso de adaptación de los clones de tomate de cáscara micropropagados *in vitro*

Clon	PPS	PN	PSD	CF
IV – P	92.25 a	2.500 a	53.75 a	3.25 a
X – P	88.00 ab	5.250 a	62.75 a	3.75 a
VI – P	84.50 ab	6.000 a	59.75 a	6.75 a
II – P	82.00 ab	8.750 a	35.00 a	5.00 a
III – Ch	81.50 ab	8.500 a	41.50 a	5.75 a
I – Ch	79.75 ab	9.500 a	41.50 a	4.50 a
V – Ch	79.50 ab	3.750 a	35.00 a	11.25 a
VII – Ch	69.75 ab	8.250 a	47.50 a	15.00 a
VIII – P	68.00 ab	13.250 a	43.00 a	9.25 a
IX – Ch	61.00 b	14.250 a	38.00 a	11.50 a
DMS	29.799	17.681	41.857	14.865
CHF1 Chapingo	74.30	8.850	40.10	9.60
Verde Puebla	82.95	7.150	51.05	5.60

I – Ch; III – Ch; V – Ch; VII – Ch; IX – Ch; II – P; IV – P; VI – P; VIII – P; X – P (número de clon; Ch: variedad CHF1 Chapingo, P: variedad verde Puebla); CHF1 Chapingo: promedio de clones de la variedad CHF1 Chapingo; Verde Puebla: promedio de clones de la variedad Verde Puebla; PPS, PN, PSD, CF: porcentaje de plantas sobrevivientes, plantas de desarrollo normal, plantas sin desarrollo o muertas, plantas con contaminación fungosa, respectivamente, DMS: diferencia mínima significativa (Tukey $\alpha = 0.05$); medias con la misma letra en sentido vertical son estadísticamente iguales.

Por otra parte, los datos son consistentes si se aprecia que los índices para PSD y CF en el clon IV (mismo que resultó el mejor para PPS) que fue el de menos valores para CF y está entre los de menor PSD; en contraste el clon IX (el peor en PPS) se encuentra entre los de mayor valor en las variables antes señaladas.

Una vez adaptados los clones, se trasplantaron en macetas bajo condiciones de invernadero y se realizó polinización manual acorde con la metodología

descrita por Pérez *et al.* (1998). Cuando se observó que el fruto ya había amarrado, se quitó la cubierta de glassine para favorecer el desarrollo del fruto.

La cosecha se realizó cuando los frutos cambiaron de color verde a amarillo, posteriormente se almacenaron de 25 a 30 días en contenedores de plástico plenamente identificados a fin de que llegasen a madurez completa. Se obtuvieron diferentes cantidades de semilla F1 en cada una de las cruzas realizadas, pero en todos los casos fue suficiente para realizar la evaluación de dichas cruzas en la tercera fase del trabajo.

Se observó altas tasas de sobrevivencia en todos los materiales aclimatados y el prendimiento promedio general después de dicho proceso fue del 79 %. Puesto que los clones acondicionados sufrieron una alta selección, faltaría probar con diferentes tipos de explantes, como pudiese ser: presencia de seriescencia o bien plantas con poco desarrollo en tallos y hojas, así como clones con ausencia de raíz, dado que éstas son características muy frecuentes durante la etapa de incremento *in vitro* ante la difícil homogenización de los materiales en producciones de tipo extensivo.

Por otra parte, sería apropiado para futuras investigaciones contabilizar el número de polinizaciones efectuadas y su prendimiento en cada una de las cruzas planta a planta entre los materiales de interés, con el fin de obtener el grado de compatibilidad entre las cruzas interclonales planta a planta.

Se puede decir también que bajo protocolos adecuados de incremento *in vitro* y mediante una buena etapa de aclimatación, la hibridación de esta especie resulta viable, por lo que se abre una buena posibilidad para establecer y

explotar intensivamente nuevas alternativas de mejoramiento genético mediante la ayuda de las técnicas de cultivo de tejidos, particularmente de clonación *in vitro* de progenitores que representa al menos dos ventajas importantes: fijar el fenotipo de las plantas clonadas y obtener plantas libres de fitopatógenos, aspecto particularmente importante si se toma en cuenta que los virus son el problema principal del tomate de cáscara y que algunos de ellos se trasmite por semilla (Mendoza, 1985).

3.7 CONCLUSIONES

Bajo las condiciones en que se realizó el trabajo y con los datos obtenidos, se concluyó que la aclimatación al invernadero de plantas provenientes de cultivo *in vitro* es eficiente (79 %) y que es posible obtener semilla viable de cruas interclonales planta a planta.

3.8 LITERATURA CITADA

- Andrade, R., M. 1998. Cultivo *in vitro* de tomate de cáscara. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados, Montecillo Estado de México. 163 p.
- Deberg, P. C. and L. J. Maene. 1981. A scheme for commercial propagation of ornamental plants by tissue culture. *Scientia Hort.* 14: 335-345.
- Deberg, P. C. and P. E. Read 1993. Micropropagation. *In: Micropropagation: Technology and Application.* P. Debergh C. and R. Zimmerman H. (eds.). Second Edition. Kluwer Academic Publishers. Pp: 1-13.
- Desjardins, Y. 1995. Factors affecting CO₂ fixation in striving to optimize photoautotrophy in micropropagated plantlets. *Plant Tissue Culture and Biotechnology* 1: 13-25.
- Cruz U., A. y I. Álvarez E. 1995. Estudio de regeneración *in vitro* de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) variedades Salamanca y Tamazula. Tesis de Licenciatura. Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México 69 p.
- Granada C., L. 1985. Manejo de plantas en invernadero. *In: Fundamentos – Teórico Prácticos de Cultivo de Tejidos Vegetales.* V. M. Villalobos A. (ed.). CP-FAO México. Pp: 161-168.
- Hartmann, H. T., D. E. Kester and F. T. Davies. 1990. Techniques of *in vitro* culture for micropropagation. *In: Plant Regeneration Principles and Practices.* H. HartmannT., D. Kester E. And F. Davies T. (eds). Fifth Edition. Prentice Hall New Jersey. Pp: 446-525.

- Mendoza Z., C. y B. Pinto C. 1985. Principios de Fitopatología y enfermedades causadas por hongos. Departamento de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, México. Pp: 152-289.
- Nielsen, T. H., H. C. Skjaek, and P. Kalsen. 1991. Carbohydrate metabolism during fruit development in sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) plants. Plant Physiology 82: 311-319.
- Orozco R., R. S. 1993. Propagación *in vitro* de papa (*Solanum tuberosum* L.) y su adaptación a invernadero. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, México. 187 p.
- Pérez G. M., F. Márquez S. y A. Peña L. 1998. Mejoramiento Genético de Hortalizas. 2ª ed. Ed. Mundi- Prensa México. México. 380 p.
- Pierik, R. L. M. 1990. Propagación *in vitro* de las plantas superiores. Ed. Mundi Prensa. Madrid. 326 p.
- Wainwright, H. and J. Marsh. 1986. The micropropagation of watercress (*Rorippa nasturtium aquaticum* L.). J. Hortic. Sci. 61: 251-256.
- Wardle, K., E. B. Dobbs, and K. C. Short. 1993. *In vitro* acclimatization of aseptically cultured plantlets to humidity. J. Am. Soc. Hort. Sci. 180: 386-389.

4. HETEROSIS INTERVARIETAL ENTRE CLONES DE TOMATE DE CÁSCARA (*Physalis ixocarpa* Brot.)

4.1 RESUMEN

El mejoramiento genético del tomate de cáscara ha sido lento debido a lo limitado de los métodos que se pueden aplicar en esta especie, ya que presenta autoincompatibilidad confiriéndole la condición de alógama obligada, lo que dificulta la obtención y conservación de líneas puras, al menos bajo los métodos de incremento convencionales. La selección individual y su posterior clonación *in vitro* es una opción que puede reducir el tiempo para el mejoramiento de tomate. El objetivo del presente trabajo fue determinar y comparar la heterosis de cinco híbridos obtenidos por cruzamiento planta a planta de semilla botánica y los obtenidos por cruzamientos clonales planta a planta, evaluándose tanto en campo como en invernadero en un diseño experimental de bloques completos al azar con tres y cuatro repeticiones por ambiente, respectivamente. Los análisis de varianza en campo (acolchado) mostraron diferencias significativas en todas las variables consideradas para los dos primeros cortes y en rendimiento total. El grupo de los híbridos clonales se comportó en forma similar al resto de los grupos. La media de los progenitores fue la mayor en rendimiento, sólo superada por el grupo de los mejores tres híbridos. El valor promedio de heterosis de las cruzas respecto al mejor progenitor fue negativo en todos los casos. Bajo condiciones de invernadero los análisis de varianza mostraron diferencias significativas para la variable altura de planta. El tratamiento 23 (híbrido de semilla botánica) fue el de mayor altura,

aunque estadísticamente igual a los dos progenitores. Entre grupos, el progenitor Verde Puebla fue mayor en altura que todos los promedios de cruzas y que la variedad CHF1 Chapingo. El valor promedio de la heterosis de las cruzas respecto al mejor progenitor fue negativo en todos los casos, aunque estadísticamente estas diferencias son no significativas. Se concluye que la técnica de micropropagación *in vitro* en tomate de cáscara para hacer cruzas interclonales no modifica el comportamiento de los híbridos respecto a los obtenidos de plantas provenientes de semilla botánica

4.2 ABSTRACT

The genetic improvement of husk tomato has been slow due to the limited of the methods that can be applied in this specie, it presents self-incompatibility that confer it the condition of forced alogamus, which hinders the difficult the pure lines obtaining and maintaining in breeds, at least under the conventional production methods. The individual selection and their *in vitro* cloning are options that can reduce the time for husk tomato improvement. The present work objective was to determine and to compare the heterosis of five hybrids obtained by crosses plant to plant from botanical seed and those obtained by crosses between their clones. The hybrids and their parents were evaluated at a random blocks experimental design in field and greenhouse conditions, with three and four repetitions respectively. Variance analysis in the field showed significant differences in all the variables taken into consideration for the first two harvests and in total yield. The group of hybrid clones behaved similarly to the rest of the groups; the yield mean of the parents was the highest, except for the mean of the group of the three best hybrids. The average value of heterosis of the crosses, with respect to the best parent, was always negative. Under greenhouse conditions, variance analysis showed significant differences only for plant height. Treatment 23 (hybrid from botanical seed) was the best, although statistically equal to the two parents. Among the groups, the Verde Puebla parent was taller than all cross averages and than the CHF1 Chapingo parent. The average value of the heterosis of the crosses relative to the best parent was

always negative in every case, although these differences were not statistically significant. It can be concluded that *in vitro* husk tomato micropropagation to create interclonal cross hybrids did not affect the behavior of these hybrids that were produced from botanical seed.

4.3 INTRODUCCIÓN

En el Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo en 1985 se inició un proyecto de colecta, conservación y mejoramiento de tomate de cáscara. A la fecha se cuenta con más de 200 colectas en el Banco de Germoplasma, la mayor parte han sido evaluadas por sus características agronómicas como rendimiento, altura de planta, hábito de crecimiento, resistencia a plagas y enfermedades, homogeneidad en tamaño y peso de fruto. Sin embargo, el avance obtenido en su mejoramiento genético ha sido lento debido a lo limitado de los métodos de mejoramiento factibles de ser utilizados en esta especie (selección masal visual estratificada, selección familiar de medios hermanos y selección combinada de medios hermanos), lo que se debe a la autoincompatibilidad que presenta y que hace que se comporte como una especie alógama obligada (Peña y Santiaguillo, 1998).

La selección individual es una opción que puede reducir el tiempo para el mejoramiento de tomate. Estas plantas, una vez seleccionadas, se pueden clonar *in vitro* y en un solo ciclo pueden generar "líneas clonales", mismas que posteriormente se pueden intercruzar y así poder explotar el vigor híbrido de las poblaciones obtenidas, metodología que fue explorada por Ramírez y Ochoa (1991) y por Manzo *et al.* (1998). Otra opción consiste en la utilización de líneas puras obtenidas vía el cultivo de anteras y su clonación (Ortuño *et al.*, 1998)

Peña (1998) señala que el mejoramiento genético del tomate de cáscara en México ha sido limitado, existiendo hasta la fecha sólo dos variedades mejoradas: Rendidora y CHF-1 Chapingo. Sin embargo, existen numerosos

materiales nativos, que las compañías semilleras han incrementado y comercializado. También se han detectado patrones heteróticos importantes que sugieren la factibilidad de obtener híbridos (Peña *et al.*, 1998).

Santiagoullo *et al.* (2004) realizaron 560 híbridos mediante cruza planta a planta entre las variedades CHF1-Chapingo y Verde Puebla, de la evaluación en campo de 220 de ellos encontraron que la heterosis promedio respecto al progenitor medio y respecto al mejor progenitor fue significativa, por lo que su utilización comercial bajo el enfoque de hibridación de clones planta a planta es pertinente. Además de los trabajos de formación y evaluación de los híbridos intervarietales planta a planta, Santiagoullo (2003) clonó *in vitro* las plantas progenitoras de los híbridos derivados, por lo que se cuenta con clones de los progenitores de cinco híbridos. Dado lo anterior y mediante el empleo de las técnicas de cultivo de tejidos, se decidió incrementar los clones, adaptarlos a condiciones de invernadero y realizar las cruza interclonales planta a planta correspondientes, con el objetivo de determinar si la heterosis de los híbridos formados originalmente (de plantas provenientes de semilla botánica) se mantiene en los correspondientes formados con las plantas clonadas. Con lo anterior se pretende sustentar la hipótesis de que es posible obtener semilla híbrida a partir de clones micropropagados *in vitro* dado que la heterosis respecto a los híbridos originales se mantiene, porque la clonación *in vitro* mantiene el genotipo de los progenitores.

4.4 REVISIÓN DE LITERATURA

4.4.1 Clasificación taxonómica, morfología y fisiología.

El tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) es una solanacea (Benson, 1957) con un número somático de cromosomas $2n = 24$ (Menzel, 1951).

Villanueva (1978) describió esta especie como una planta herbácea anual de 40 a 90 cm de altura dependiendo del hábito de crecimiento; el diámetro del tallo principal es de 1.1 a 1.3 cm; las ramas primarias de 0.8 a 0.9 cm; en los primeros días de vida presenta pubescencia esparcida en las hojas y ramas la cual se pierde a medida que crece la planta; las hojas son alternas de forma ovalada de 5.0 a 10.0 cm de largo por 4.0 a 6.0 cm de ancho, base atenuada, ápice agudo ó ligeramente acuminado, con márgenes irregulares dentados (por lo general presenta seis dientes por cada lado) y pecíolos de 4.0 a 6.5 cm de largo; la flor es pentámera, con pedicelos de 0.7 a 1.7 cm de largo, corola de 1.0 a 2.69 cm de diámetro, color amarillo con manchas azul verdoso ó morado, tenues ó bien marcadas, las anteras son azules ó azul verde de 0.2 a 0.4 cm de largo, las cuales se encorvan después de la dehiscencia, el fruto es una baya de 1.6 a 6.0 cm de largo, el cáliz que cubre el fruto mide 1.8 a 4.3 cm de largo por 2.5 a 6.0 cm de ancho, con 10 costillas que en algunos casos de color morado, pero en general son del mismo color del cáliz, los pedicelos miden de 0.6 a 1.0 cm de largo.

La fenología y morfología de esta especie resulta muy variable entre las diferentes razas con las que se cuenta (Peña *et al.*, 1997). Sin embargo, se

puede establecer en forma general que el tomate de cáscara tiene un ciclo de vida entre 85 a 90 días de la siembra a la senescencia; después de la germinación el crecimiento es lento, aproximadamente $1 \text{ cm} \cdot \text{día}^{-1}$; a los 24 días acelera el crecimiento terminándose a los 55 días que es cuando alcanza una altura de 90 cm; después la planta sigue creciendo lentamente hasta alcanzar poco más de un metro, lo que sucede a los 70 días; posteriormente la planta empieza a envejecer rápidamente (Villanueva, 1978).

La diferenciación de las yemas florales se inicia entre los 17 y 20 días después de la siembra; la aparición de las primeras flores ocurre a los 28 ó 30 días y continúa floreando hasta que la planta muere. Las flores abren antes que las anteras tengan dehiscencia, entre las 8 y 12 horas del día. Los lóbulos se hinchan considerablemente antes de abrir el botón floral. Poco antes de la dehiscencia de las anteras los filamentos se elongan hasta llegar cerca del estigma. La dehiscencia ocurre gradualmente de la punta a la base; las paredes de las anteras se enroscan hacia atrás para liberar el polen. Las anteras, de color amarillo-crema ó blanco, no abren uniformemente sino que duran de 2 a 4 días entre la dehiscencia de la primera a la quinta antera. Entre el tercero y sexto día después del cierre de las anteras, se encorvan: la corola, los estambres, el estilo y el estigma; después se empieza a marchitar y finalmente se caen; ocurrido lo anterior, el ovario y el cáliz se elongan; éste último envuelve al fruto joven y crece a su máximo antes de que el fruto madure (Pérez *et al.*, 1998).

La polinización es efectuada por medio de los insectos, principalmente las abejas. El cuajado de los frutos se inicia a los 35 días después de la siembra y a los 42 se inicia la formación de cascabel. Del cuajado de los frutos a la maduración transcurren de 40 a 60 días, dependiendo de la variedad y del ambiente de producción. Del total de flores que tiene una planta sólo el 40% son fecundadas, de éstas un 30% aproximadamente llegan a cosecharse en su madurez. La producción comercial de una planta se obtiene entre los cuatro y siete primeros entrenudos, lográndose en ocasiones hasta el décimo (Flores, 1996).

4.4.2 Heterosis en tomate de cáscara

El concepto de heterosis fue acuñado por el Dr. Shull, quien lo utilizó por primera vez en 1914 en una conferencia que dictó en la Universidad de Gotinggen, Alemania, poco antes de que estallara la Primera Guerra Mundial. Conforme Shull progresaba en sus trabajos e iba delineando sus ideas, llegó a establecer una diferenciación entre la comparación entre polinización cruzada y autofecundación, que originalmente manejaba, y la comparación entre líneas puras y un híbrido, éstos siendo efectos de aquéllas. Este enunciado involucró el primero y claro acercamiento al concepto de heterosis; es decir, establece una diferencia genética entre las líneas y sus híbridos: aquéllas homocigóticas y éstos heterocigóticos, de ahí que la interpretación de tal concepto, sugerido por Shull, sea: "El mayor vigor, tamaño, fructificación, velocidad de desarrollo, resistencia a enfermedades y a plagas, o a regiones climáticas de cualquier

clase, manifestado por los organismos cruzados al compararse con los organismos endogámicos correspondientes, como resultados específicos de la disimilitud en la constitución de los gametos paternos" (Márquez, 1988).

La hipótesis de sobredominancia planteada por Shull en 1908, se refiere a que existe un estímulo fisiológico del desarrollo que aumenta con la diversidad de gametos que se unen para formar el híbrido, ya que cada gen en un locus determinado desempeña una función diferente (Hallauer, 1981). Esto significa que el heterocigote es superior a cualquiera de los dos homocigotes y que el vigor híbrido aumenta en proporción directa a la cantidad de heterocigosis. A esta hipótesis se le conoce también como de acción acumulativa de los alelos divergentes, estimulación por heterocigosis o heterosis del gen simple (Márquez, 1988).

La hipótesis de la dominancia fue propuesta por Davenport en 1908, Bruce en 1910, y Keeble y Pelow en 1910; explica tanto la depresión endogámica producida por consanguinidad como el fenómeno inverso del vigor híbrido, establece que el grado de heterosis depende del número de loci en condición dominante, y se basa en el hecho frecuentemente observado por los genetistas y genotecnistas en los efectos perjudiciales que los genes recesivos tienen sobre los fenotipos (o en forma opuesta, los efectos benéficos de los genes dominantes) (Hallauer, 1976; Márquez, 1988).

La heterosis varietal es la heterosis promedio con que contribuye un progenitor en las cruzas evaluadas en que participa, mientras que la heterosis específica está referida a una craza en particular (Gardner y Eberhart, 1966).

En un escrito sobre uso comercial de la heterosis en tomate de cáscara, Peña y Santiaguillo (2002) plantearon una estrategia que permite explotar la heterosis en dicha planta partiendo de la información existente al respecto. Dicha estrategia, tomada textualmente de los autores citados, consiste en lo siguiente:

La formación de híbridos intervarietales es una alternativa para utilizar la heterosis en tomate de cáscara. En esta especie, Peña *et al.* (1998) encontraron, para rendimiento total de fruto, una heterosis respecto al mejor progenitor de 14.3 % en la cruza CHF1- Chapingo x Verde Puebla y Sahagún *et al.* (1999) para rendimiento de fruto en el primer corte reportan una heterosis de 138.7 % en la cruza Salamanca x Rendidora.

En especies autoincompatibles como tomate de cáscara, el rendimiento de los híbridos intervarietales puede aumentarse si estos se forman entre dos plantas S_0 (sin endogamia) de dos variedades de alto rendimiento y divergentes genéticamente, por la mayor especificidad entre algunas plantas, expresada en alta heterosis. La formación de estos híbridos tiene el problema del mantenimiento y multiplicación de las plantas S_0 progenitoras de los mejores híbridos, el cual puede resolverse mediante propagación vegetativa (Manzo *et al.*, 1998).

Los cruzamientos intervarietales comúnmente exhiben heterosis (Paterniani y Lonnquist, 1963). En tomate de cáscara se ha demostrado la presencia de heterosis en híbridos intervarietales, se ha medido su magnitud y se han definido sus patrones heteróticos (Peña *et al.*, 1998 y Sahagún *et al.*, 1999). Se

considera que con el cruzamiento de plantas seleccionadas S_0 provenientes de variedades divergentes y de alto rendimiento, se puede obtener heterosis superior a la de un híbrido intervarietal, debido a una mayor especificidad entre algunas cruas.

Con base en el planteamiento descrito se diseñó la siguiente propuesta para utilizar la heterosis en tomate de cáscara, mediante la formación de híbridos entre plantas seleccionadas S_0 , provenientes de dos variedades de alto rendimiento y divergentes genéticamente, donde el mantenimiento y multiplicación de las plantas progenitoras S_0 de los mejores híbridos, se logrará mediante propagación vegetativa.

ESTRATEGIA

1. Estudios de aptitud combinatoria general y específica para selección de progenitores.
2. Mejoramiento en cada una de las poblaciones progenitoras. Se debe de decidir el método y el número de ciclos de selección.
3. Establecer una población grande de cada una de las poblaciones y en almácigo practicar selección de plántulas (plantas S_0) por sanidad, calidad genética y deficiencias nutrimentales. Formar pares de plantas S_0 (una planta de cada variedad), con el objetivo de hacer práctica la polinización manual y antes de la floración practicar selección con los criterios indicados.
4. Formación de híbridos dentro de cada par de plantas S_0 seleccionadas, mediante cruas manuales planta a planta, para una mayor confiabilidad.

Asumiendo que cada planta S_0 es un híbrido de cruza simple (proviene directamente de dos progenitores), el híbrido formado en cada par de plantas será un híbrido de cruza doble.

5. Realizar poda de flores y posibles frutos no híbridos.
6. Descartar híbridos cuyos progenitores presentan deficiencias nutricionales, daños por enfermedad y plagas, hábito, tipo de planta no deseado, u otro criterio de acuerdo al interés del mejorador. Los híbridos restantes serán los considerados útiles.
7. Propagación asexual en todas la plantas S_0 progenitoras de los híbridos útiles mediante micropropagación *in vitro*.
8. Evaluación de híbridos útiles en al menos dos ambientes contrastantes y selección de los mejores, aplicando una presión de selección entre 5 y 10 %.
9. Evaluación de los híbridos seleccionados (en el paso ocho) en un mayor número de ambientes y seleccionar el (los) mejor (es).
10. Incremento por micropagación *in vitro* de las plantas progenitoras del (de los) mejor (es) híbrido (s).
11. Producción comercial de semilla híbrida en campo o en invernadero, alternando un surco de plantas de un progenitor y un surco del otro.

4.4.3 Comentarios sobre la estrategia.

Considerando que para el paso uno es necesario un ciclo, para el dos al menos dos, los pasos tres al siete se pueden realizar en un ciclo, el ocho y

nueve en dos ciclos y los pasos 10 y 11 en un solo ciclo; entonces, la estrategia que se propone implica al menos siete ciclos de producción. Sin embargo, la investigaciones de Peña *et al.* (1998) y Sahagún *et al.* (1999) presentan avances al respecto (paso uno y dos), por lo que el número de ciclos-necesarios se reduce a cuatro. Tomando en cuenta que alguna de las etapas descritas se deben de realizar en invernadero o laboratorio y que en ciertos ambientes es posible dos o tres ciclos por año, los ciclos necesarios se pueden realizar en al menos año y medio.

La ausencia de efectos maternos en rendimiento, tamaño y peso de fruto (Peña *et al.*, 1998) permite utilizar indistintamente cualquiera de las dos plantas como hembra o macho y contar así con mayor cantidad de semilla.

El paso siete se puede realizar por micropagación mediante el cultivo *in vitro* de yemas axilares, cuya metodología ha sido descrita por Manzo *et al.* (1998); sin embargo, puede redundar en un alto costo. La metodología para propagar asexualmente las plantas de tomate de cáscara vía clonación de esquejes también ha sido descrita (García y Jiménez, 2001), por lo que la combinación de ambas estrategias permitiría reducir costos de mantenimiento de progenitores y en consecuencia los de la producción de la semilla híbrida.

4.4.4 Variedades o materiales de tomate de cáscara

En México existe una gran variabilidad genética en tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). Actualmente se han descrito ocho razas: Silvestre, Milpero, Arandas, Tamazula, Manzano, Rendidora, Salamanca y Puebla (Peña

y Santiaguillo, 1998), distribuidas prácticamente en todo el país en altitudes que van desde los 8 hasta los 3,350 msnm (Santiaguillo *et al.*, 1994). Las razas más importantes por la magnitud de su uso comercial son Rendidora, Salamanca y Tamazula, siendo la primera la única en que existen variedades mejoradas (Peña, 1998).

4.4.5 Mejoramiento genético de tomate de cáscara

El tomate de cáscara es una planta alógama obligada, característica que dificulta su mejoramiento por métodos tradicionales, encontrándose una gran variedad en cuanto a hábito de crecimiento, color, tamaño, forma y firmeza de fruto, precocidad y rendimiento (Peña y Márquez, 1990).

De manera clásica, la genotecnia estricta de una especie alógama de reproducción sexual debe iniciar con el mejoramiento por selección, con el objeto de incrementar las frecuencia génicas de los alelos favorables a la menor o mayor expresión de un carácter y con esto acumular efectos aditivos, y posteriormente derivar líneas endogámicas de las poblaciones mejoradas con la finalidad de aprovechar los efectos de dominancia y/o epistáticos de los genes mediante el cruzamiento de éstas, para la obtención de híbridos de alto rendimiento y heterosis, misma que se espera que sea mayor cuanto más divergencia genética exista entre las líneas o las poblaciones objeto de cruzamiento (Peña *et al.*, 1998).

Dentro de las limitantes que presenta la especie para llevar acabo programas de mejoramiento genético, el camino más viable ha sido la

selección, con el cual se han obtenido sólo dos variedades (Pérez *et al.*, 1998), el cual es de hecho el camino más fácil y rápido para la obtención de nuevas variedades en las razas cultivadas donde el fitomejorador no ha sido intensivo.

Otra técnica que puede ser empleada en la realización de un programa de mejoramiento es el cultivo de anteras, que puede permitir el uso de dihaploides homocigotes. El cultivo de anteras es una de las técnicas más sencillas para obtener callo, embriones y plantas haploides derivadas de las microsporas en un tiempo relativamente corto. La duplicación de cromosomas de las plantas haploides mediante la aplicación de colchicina en las etapas tempranas del desarrollo permite obtener dihaploides, los cuales pueden ser utilizados para producir líneas puras, mientras que a través de los métodos convencionales de mejoramiento se requieren numerosos ciclos de autofecundación para obtenerlas (Ortuño *et al.*, 1998).

En 1964, Guha y Maheshwari descubrieron que el polen de una solanácea (*Datura innoxia* Miller.) podría ser modificado en su crecimiento normal hacia la formación de embriones, por el simple hecho de cultivarlo intacto dentro de la antera. Desde entonces, la formación de plantas se ha logrado directamente vía androgénesis (formación de embriones a partir de microesporas) o vía callo, en cerca de 200 especies, principalmente de las familias Solanaceae, Gramineae y Cruciferae (Bajaj, 1983).

Desde luego, se ha demostrado también que en tomate de cáscara es posible obtener híbridos interclonales planta a planta con alto rendimiento y heterosis (Santiaguillo *et al.*, 2002), aunque se requiere contar con un protocolo

eficiente para multiplicar vegetativamente a los progenitores, ya sea por cultivo *in vitro* o enraizamiento de esquejes (Santiaguillo *et al.*, 2004).

4.5 MATERIALES Y MÉTODOS

Fase 3. Evaluación y comparación de cruzas interclonales.

Para comparar la heterosis de los cinco híbridos convencionales obtenidos por Santiaguillo (2003) con sus correspondientes obtenidos por cruzamiento clonales planta a planta, se planteó una evaluación que incluyó de los 10 híbridos y las dos variedades originales. Sin embargo, no se contó con semilla botánica de los híbridos correspondientes evaluados por Santiaguillo (2003), por lo que de las 220 cruzas planta a planta útiles (ya que de las 560 cruzas realizadas 340 se eliminaron debido a que una o las dos plantas de una craza presentaron crecimiento raquítrico, deficiencias nutrimentales, síntomas de enfermedades o de ataque de plagas o bien debido al bajo porcentaje de germinación de la semilla F_1) se tomaron 10 híbridos al azar, los tres mejores, los tres peores y cuatro que se encontraron en la media general. Así, se evaluaron los diez híbridos interclonales (de cruzas planta a planta, directas y recíprocas), veinte híbridos evaluados por Santiaguillo (2003), y las dos variedades originales (Cuadro 4.5.1), tanto en campo con acolchado como en invernadero, según un diseño experimental de bloques completos al azar con tres y cuatro repeticiones, respectivamente. La forma de evaluación y los caracteres cuantificados se hizo con base en lo propuesto por Peña (1998), con énfasis en caracteres como número de fruto por planta, rendimiento por planta y rendimiento comercial.

La primera evaluación se realizó en el Campo Agrícola Experimental San Martín (Lote SM-4) de la Universidad Autónoma Chapingo, geográficamente

localizado a 19° 32' de latitud Norte y 98° 51' de longitud Oeste del meridiano de Greenwich, a una altura de 2240 msnm y con clima Cb(W₀)(w)(i')g, en el que:

C(W₀): Corresponde al más seco de los templados subhúmedos con lluvias en verano, (por lo menos diez veces mayor cantidad de lluvia en el mes más húmedo de la mitad caliente del año que en el mes más seco).

(b): Con verano fresco y largo, temperatura media anual entre 16.5 y 22 °C.

(w): Con un porcentaje de lluvia invernal menor de cinco de la total anual.

(i'): Poca oscilación térmica, entre 5 y 7 °C.

g: Marcha de la temperatura tipo ganges, (el mes más caliente ocurre antes del solsticio de verano). La precipitación se concentra en los meses de junio a septiembre, con 451 mm que representa el 71% del total anual; la cual es de 636.5 mm. La temperatura media anual es de 15.2 °C, el mes con temperatura más alta es mayo con 17.9 °C, y los meses con temperaturas más bajas son Diciembre y Enero, con 12.0 y 11.8 °C, respectivamente (García, 1988).

El suelo de San Martín (Lote SM-4) es franco arcillo limoso con un pH de 7.03, un contenido de materia orgánica de 2.03 %, con 0.115 % de nitrógeno total. El contenido de fósforo (Olsen) es de 13.54 mg kg⁻¹. La conductividad eléctrica de 0.482 ds m⁻¹. La humedad del suelo a capacidad de campo de 22.26 % y un punto de marchitez permanente a 11.79 % (Ramos, 2000).

Se usó un sistema de riego por goteo, suelo desnudo y a cielo abierto. La parcela experimental fue de un surco de 3 m de longitud, con distancia entre surcos de 1.20 m y entre matas de 0.30 m, correspondientes a una densidad de población de 27,777 plantas ha⁻¹. Se tuvo una alta frecuencia de plantas

muertas por problemas de hongos del suelo. Dado que la unidad experimental consistía en 10 plantas y ante el alto índice de infección se decidió no considerar las variables registradas en la primera evaluación.

La segunda evaluación se hizo en el mismo lote (SM-4) con riego por goteo, acolchado y cielo abierto, bajo las mismas condiciones climáticas y edafológicas. La parcela experimental fue de surcos de 4 m de longitud, con distancia entre surcos de 1.20 m y entre matas de 0.40 m, correspondientes a una densidad de población de 20,833 plantas ha⁻¹. Se estableció el experimento con plántulas desarrolladas en invernadero, transplantado en suelo húmedo una planta por mata. El trasplante de los materiales (Cuadro 4.5.1) se realizó el 3 de mayo de 2004, en un diseño experimental de bloques completos al azar con tres repeticiones.

La tercera evaluación se realizó en uno de los invernaderos del Postgrado de Horticultura de la Universidad Autónoma Chapingo, en Chapingo, México; bajo condiciones de hidroponía, riego automatizado tres veces al día (10:00, 12:00 y 15:30 h) de 15 minutos cada riego con solución nutritiva (ver anexo) en sistema hidropónico sin recuperación. El experimento se realizó con plántulas desarrolladas en invernadero, transplantándose a los 35 días después de la siembra. Las plántulas se establecieron el 7 de junio de 2004 en macetas (bolsas de polietileno negro de 0.45 x 0.40 m) llenas de tezontle de textura fina. A los 40 días después del trasplante (DDT) se observó indicios de plantas viróticas y a los 65 días la incidencia fue muy alta, por lo que se desecharon todas las planta y se repitió el experimento.

En el cuarto experimento se evaluaron los 10 híbridos tomados al azar, los tres mejores, los tres peores y cuatro que se encontraron en la media general; los diez híbridos clonales (de cruza planta a planta, directas y reciprocas); las dos variedades originales y cuatro híbridos adicionales (Cuadro 4.5.1). No se evaluaron los clones incrementados *in vitro* dado que este proceso es muy largo y fue imposible sincronizarlos con las siembras de semilla botánica. Se uso un diseño experimental de bloques completos al azar con cuatro repeticiones y se trasplantó el 19 de octubre de 2004. Nuevamente, a los 40 DDT se manifestaron síntomas de virus, específicamente el INSV detectado en diversas muestras de plantas tomadas el 15 y 16 de diciembre de 2004 y analizadas en el Laboratorio de Virus del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo. Los caracteres evaluados para este experimento fueron: altura de planta (AP), número de hojas (NH), a los 7 DDT, altura de planta (AP) y altura a la primera bifurcación (APB) a los 30 DDT; así como severidad de la virosis (PE) a los 50 DDT.

Cuadro 4.5.1. Descripción de los materiales evaluados en dos ambientes.

ACOLCHADO			INVERNADERO		
Trat.	Descripción		Trat.	Descripción	
1	I x II	Híbrido	1	I x II	Híbrido
2	II x I	Híbrido	3	III x IV	Híbrido
3	III x IV	Híbrido	4	IV x III	Híbrido
4	IV x III	Híbrido	5	V x VI	Híbrido
5	V x VI	Híbrido	6	VI x V	Híbrido
7	VII x VIII	Híbrido	7	VII x VIII	Híbrido
8	VIII x VII	Híbrido	8	VIII x VII	Híbrido
9	IX x X	Híbrido	10	X x IX	Híbrido
10	X x IX	Híbrido	11	159 8-19	Azar
11	159 8-19	Azar	12	113 14-13	Azar
12	113 14-13	Azar	13	31 10-3	Azar
13	31 10-3	Azar	14	154 11-23	Azar
14	154 11-23	Azar	15	200 5-38	Azar
15	200 5-38	Azar	16	102 1-19	Azar
16	102 1-19	Azar	17	85 10-24	Azar
17	85 10-24	Azar	18	142 11-35	Azar
18	142 11-35	Azar	19	117 9-20	Azar
21	189 13-23	Menor rend.	20	209 3-13	Azar
22	201 7-5	Menor rend.	21	189 13-23	Menor rend.
23	Menor rend. ¹	Menor rend.	22	201 7-5	Menor rend.
24	83 6-32	Rend. medio	23	Menor rend. ¹	Menor rend.
25	7 4-4	Rend. medio	24	83 6-32	Rend. Medio
26	6 4-27	Rend. medio	25	7 4-4	Rend. Medio
27	127 3-12	Mayor rend.	26	6 4-27	Rend. Medio
28	171 7-25	Mayor rend.	27	127 3-12	Mayor rend.
29	170 12-13	Mayor rend.	28	171 7-25	Mayor rend.
30	165 14-14	Rend. medio	29	170 12-13	Mayor rend.
31	Chapingo F1	2002	30	165 14-14	Rend. Medio
32	Verde Puebla	2002	31	Chapingo F1	2002
			32	Verde Puebla	2002
			33	Híbrido	I x VIII
			34	Híbrido	V x VIII
			35	Híbrido	IX x VIII
			36	Híbrido	IV x VIII

¹ Sin clave (Santiaguillo, 2003). En acolchado los tratamientos 6, 19 y 20 no se establecen por insuficiencia de planta. En invernadero los tratamientos 2 y 9 no se establecieron por insuficiencia de semilla y los tratamientos 33, 34, 35 y 36 corresponden a híbridos adicionales.

4.6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.6.1 En campo con colchado

En este experimento se detectaron plantas muertas por problemas de hongos del suelo, que se manifestaron principalmente en las plantas propagadas *in vitro* por tener mayor susceptibilidad. El tratamiento 20 (híbrido elegido al azar) presentó bajo porcentaje de germinación y plantas muy raquíticas; los materiales identificados como 6 (híbrido clonal VI x V) y 19 (híbrido elegido al azar) presentaron severas mermas por la enfermedad. Por lo anterior, se determinó omitir los datos que arrojaron dichos materiales.

Los análisis de varianza (Cuadro 4.6.1.1) mostraron diferencias significativas entre variedades para las variables RPP1, NFP1, RT1, RPP2, RT2 y RTOT.

Cuadro 4.6.1.1 Cuadrados medios del análisis de varianza de los 29 materiales de tomate de cáscara evaluados en acolchado.

F.V.	G.L.	RPP1	NFP1	RT1	RPP2	NFP2
TRAT	28	65899.29 *	44.98 *	28.61 *	32002.20 *	22.36
REP	2	79469.62 *	37.39	33.47 *	322.77	10.79
Error	56	23645.93	17.44	10.26	16582.94	15.83
CV (%)		31.30	35.83	31.53	50.10	51.28
R ²		0.73	0.67	0.73	0.55	0.46

F.V.: fuentes de variación; C.V.: coeficiente de variación (%); G.L.: grados de libertad; RPP1: rendimiento por planta en el corte número 1; NFP1: número de frutos en el corte 1; RT1: rendimiento total en el corte 1; RPP2: rendimiento por planta en el corte número 2; NFP2: número de frutos en el corte 2; RT2: rendimiento total en el corte 2; RPP3: rendimiento por planta en el corte número 3; NFP3: número de frutos en el corte 3; RT3: rendimiento total en el corte 3; RTOT: rendimiento total. *: significancia con $\alpha = 0.05$; TRAT: tratamientos; REP: repeticiones.

Continuación cuadro 4.6.1.1

F.V.	G.L	RT2	RPP3	NFP3	RT3	RTOT
TRAT	28	13.89 *	17241.11	24.61	7.481	74.75*
REP	2	0.11	119652.04 *	116.79	52.12 *	32.67
Error	56	7.19	23323.63	38.38	10.12	23.57
CV (%)		50.12	41.92	39.37	41.98	26.47
R ²		0.55	0.46	0.38	0.46	0.62

F.V.: fuentes de variación; C.V.: coeficiente de variación (%); G.L.: grados de libertad; RPP1:rendimiento por planta en el corte número 1; NFP1: número de frutos en el corte 1; RT1:rendimiento total en el corte 1; RPP2: rendimiento por planta en el corte número 2; NFP2: número de frutos en el corte 2; RT2: rendimiento total en el corte 2; RPP3: rendimiento por planta en el corte número 3; NFP3: número de frutos en el corte 3; RT3: rendimiento total en el corte 3; RTOT: rendimiento total. *: significancia con $\alpha = 0.05$; TRAT: tratamientos; REP: repeticiones.

Se encontraron diferencias significativas para los caracteres RPP1 y RT1 (Cuadro 4.6.1.2) mostrándose superior el tratamiento 28, pero estadísticamente igual a uno de los progenitores originales (CHF1- Chapingo); así mismo, este progenitor mostró superioridad para el carácter NFP1. El mayor rendimiento en el primer corte lo presentó el tratamiento 28 ($17.007 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$), debido a su mayor tamaño y peso de frutos, aunque menor en número respecto a CHF1. Así mismo, para el carácter RTOT el tratamiento 28 fue estadísticamente superior al resto de los materiales.

Por otra parte, los dos progenitores originales (31 = CHF1-Chapingo y 32 = Verde Puebla) mantuvieron comportamientos disímiles, pues mientras el 31 destacó en varios de los caracteres evaluados, el tratamiento 32 fue el peor material para los caracteres RPP1, NFP1, RT1, RT2 y RTOT. Santiaguillo (2003) encontró que el rendimiento en Chapingo superó al de Puebla con el 51 %, debido a un mayor número de frutos por planta en la primera variedad. En la presenta investigación esta superioridad se manifestó en un 200 %, lo cual posiblemente se debe al habito de crecimiento, ya que CHF1-Chapingo es de

hábito rastrero y Verde Puebla es de hábito erecto. Por lo que, considerando la densidad de plantación y condiciones de acolchado, se evitó la pérdida de frutos por contacto con el suelo e inhibición de desarrollo por competencia entre plantas; en contraste con la variedad de hábito erecto que no presentaba condiciones propicias para su desarrollo, debido a los vientos que se presentan durante esta época del año y a la ausencia de tutorio.

Cuadro 4.6.1.2. Medias para las variables consideradas en los tres cortes efectuados en el experimento de acolchado. Chapingo, México. 2004.

TRAT	RPP1		NFP1		RT1		RPP2	NFP2
1	248.67	cde	5.667	c	5.179	cd	247.33	ab
2	372.83	bcde	10.333	bc	7.755	bcd	162.00	b
3	378.33	bcde	10.000	bc	7.858	bcd	213.33	ab
4	377.00	bcde	9.0000	bc	7.851	bcd	216.67	ab
5	522.00	abcd	11.333	bc	10.874	abc	151.33	b
7	311.00	cde	8.333	c	6.480	cd	213.33	ab
8	305.33	cde	9.333	bc	6.361	cd	249.33	ab
9	289.00	cde	8.667	c	6.015	cd	243.00	ab
10	222.00	cde	7.000	c	4.985	cd	218.33	ab
11	333.00	cde	9.333	bc	6.936	bcd	203.33	ab
12	335.67	bcde	7.667	c	7.249	bcd	546.67	a
13	281.00	cde	8.000	c	5.858	cd	125.67	b
14	549.00	abc	11.000	bc	11.438	abc	348.33	ab
15	485.00	abcd	12.000	abc	9.710	abcd	245.00	ab
16	186.33	de	5.333	c	3.880	cd	91.67	b
17	192.00	cde	6.333	c	3.996	cd	98.00	b
18	469.67	abcde	12.000	abc	9.784	abcd	228.67	ab
21	440.00	bcde	10.667	bc	9.165	bcd	252.33	ab
22	259.00	cde	10.000	bc	5.393	cd	99.67	b
23	385.33	bcde	11.000	bc	8.026	bcd	176.67	b
24	365.67	bcde	9.667	bc	7.616	bcd	107.67	b
25	284.00	cde	6.000	c	5.913	cd	313.33	ab
26	378.00	bcde	8.667	c	7.870	bcd	286.00	ab
27	338.00	bcde	8.000	c	7.199	bcd	274.00	ab
28	809.00	a	19.667	ab	17.077	a	415.67	ab
29	229.67	cde	6.000	c	4.784	cd	122.33	b
30	118.67	e	4.000	c	2.467	d	368.33	ab
31	696.67	ab	22.667	a	14.514	ab	183.67	b
32	306.67	cde	7.000	c	6.388	cd	132.67	b
DMS	362.61		10.893		7.628		362.32	

Continuación del cuadro 4.6.1.2

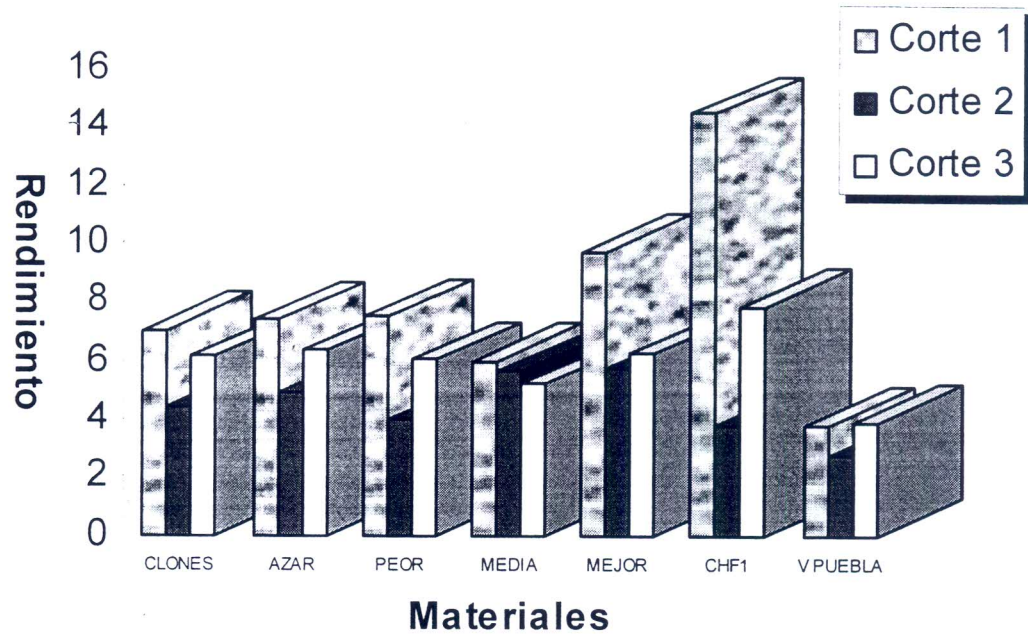
TRAT	RT2	RPP3	NFP3	RT3	RTOT
1	5.152 ab	299.67 a	13.667 a	6.243 a	16.574 abcd
2	3.379 b	239.00 a	10.333 a	4.976 a	16.111 abcd
3	4.443 ab	322.67 a	19.533 a	6.720 a	19.020 abcd
4	4.514 ab	301.00 a	11.667 a	6.270 a	18.634 abcd
5	3.153 b	234.67 a	10.667 a	4.892 a	18.919 abcd
7	4.448 ab	382.67 a	13.667 a	7.965 a	18.894 abcd
8	5.196 ab	210.00 a	12.000 a	4.267 a	15.824 abcd
9	5.062 ab	372.00 a	19.533 a	7.749 a	18.825 abcd
10	4.543 ab	289.33 a	15.000 a	6.023 a	15.550 bcd
11	4.236 ab	215.00 a	9.667 a	4.476 a	15.647 bcd
12	11.232 a	487.67 a	17.000 a	10.166 a	28.647 ab
13	2.494 b	355.33 a	13.000 a	7.409 a	15.761 bcd
14	7.257 ab	365.00 a	14.667 a	7.607 a	26.302 abc
15	5.100 ab	318.33 a	15.000 a	6.629 a	21.438 abcd
16	1.910 b	148.33 a	8.000 a	3.089 a	8.878 d
17	2.036 b	299.33 a	14.333 a	6.231 a	12.263 cd
18	4.762 ab	254.00 a	11.667 a	5.107 a	19.653 abcd
21	5.259 ab	238.00 a	10.667 a	5.065 a	19.488 abcd
22	2.078 b	317.00 a	14.000 a	6.605 a	14.076 bcd
23	3.681 b	298.00 a	13.333 a	6.212 a	17.918 abcd
24	2.239 b	133.00 a	9.667 a	2.769 a	12.624 cd
25	6.528 ab	272.33 a	14.333 a	5.674 a	18.115 abcd
26	5.949 ab	336.33 a	14.333 a	7.000 a	20.820 abcd
27	5.707 ab	350.33 a	13.333 a	7.295 a	20.202 abcd
28	8.861 ab	258.67 a	10.667 a	5.390 a	31.347 a
29	2.547 b	289.33 a	13.000 a	6.024 a	13.35 bcd
30	7.663 ab	242.33 a	12.667 a	5.371 a	15.51 bcd
31	3.826 ab	376.33 a	15.000 a	7.845 a	26.185 abc
32	2.764 b	187.67 a	7.000 a	3.913 a	13.06 cd
DMS	7.545	389.38	16.426	8.130	15.516

RPP1: rendimiento por planta en el corte número 1; NFP1: número de frutos en el corte 1; RT1: rendimiento total en el corte 1; rendimiento por planta en el corte número 2; NFP2: número de frutos en el corte 2; RT2: rendimiento total en el corte 2; RPP3: rendimiento por planta en el corte número 3; NFP3: número de frutos en el corte 3; RT3: rendimiento total en el corte 3; RTOT: rendimiento total. DMS: diferencia mínima significativa (Tukey $\alpha = 0.05$); medias con la misma letra en sentido vertical son iguales.

Dentro de los promedios por grupos, la media de los tres mejores híbridos evaluados por Santiaguillo (2003) superó en rendimiento total ($21.6 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$) al resto de los grupos. El grupo de híbridos clonales (tratamiento 1 al 10) se comportó en forma similar al resto de los grupos y la media de los progenitores es sólo superada por la del grupo de los mejores tres híbridos. De las 222 cruzas evaluadas por Santiaguillo (2003), la comparación de medias separó 191 materiales en el grupo superior, entre los que se encontraban las dos variedades progenitoras; en la presente investigación los progenitores quedaron en los extremos (Chapingo entre de los mejores y Puebla entre de los peores).

Comercialmente los dos primeros cortes son los más importantes. Debido a que entre el primer y segundo corte se dejaron pasar sólo cuatro días, se consideró pertinente incluir un tercer corte y analizar el rendimiento de los tres cortes. Como se observa en la Figura 4.6.1.1 y en el Cuadro 4.6.1.3, la variedad CHF1 Chapingo fue superior a todos los grupos de híbridos y a la variedad Verde Puebla en siete de los diez caracteres evaluados, excepto en los relacionados con el segundo corte.

Figura 4.6.1.1. Promedios de rendimiento total por grupo de híbridos en los tres cortes, en sistema de acolchado.



La mejor cruza fue el tratamiento 28 ($31.347 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$) con 19.71 % más de RTOT respecto al mejor progenitor, el cual (CHF1 Chapingo) sólo fue superado por los tratamientos 12 y 14; 9.40 y 0.44 %, respectivamente. Además, estas cruza (28,12 y 14) superaron al mejor progenitor en los caracteres RPP2 y RT2, por lo que pueden ser consideradas importantes.

Cuadro 4.6.1.3. Medias de caracteres de progenitores y cruzas de tomate de cáscara evaluadas en acolchado.

Variable	Progenitores		Cruzas				
	CHF1	V. Puebla	Híbridos clonales	Híbridos al azar	Mejores Híbridos	Peores Híbridos	Media de Híbridos
RPP1	696.67	306.67	336.24	353.95	359.57	286.58	458.89
NFP1	22.66	7.00	8.85	8.95	10.15	7.08	11.22
RT1	14.51	6.38	7.03	7.35	7.48	5.96	9.68
RPP2	183.67	132.67	212.73	235.91	191.14	268.83	270.66
NFP2	6.33	4.33	7.51	6.83	5.29	8.66	8.33
RT2	3.82	2.76	4.43	4.87	3.97	5.59	5.70
RPP3	376.33	187.67	294.56	305.37	289.59	245.99	299.44
NFP3	15.00	7.00	14.00	12.91	12.72	12.75	12.33
RT3	7.84	3.91	6.12	6.33	6.05	5.20	6.23
RTOT	26.18	13.06	17.59	18.57	17.51	16.76	21.63

RPP1: rendimiento por planta en el corte número 1; NFP1: número de frutos en el corte 1; RT1: rendimiento total en el corte 1; rendimiento por planta en el corte número 2; NFP2: número de frutos en el corte 2; RT2: rendimiento total en el corte 2; RPP3: rendimiento por planta en el corte número 3; NFP3: número de frutos en el corte 3; RT3: rendimiento total en el corte 3; RTOT: rendimiento total.

El valor promedio de la heterosis de las cruzas respecto al mejor progenitor fue negativo en todos los casos, con excepción del segundo corte donde se manifestaron heterosis positivas; sin embargo, cabe resaltar que estadísticamente estas diferencias son no significativas (Cuadro 4.6.1.4).

Cuadro 4.6.1.4. Porcentaje de heterosis respecto al mejor progenitor del promedio de cruzas bajo condiciones de acolchado.

Variable	Heterosis (%)				
	Híbridos clonales	Híbridos al azar	Peores Híbridos	Híbridos en la media	Mejores Híbridos
RPP1	-51.73	-49.19	-48.37	-58.86	-34.13
NFP1	-60.95	-60.47	-55.19	-68.75	-50.49
RT1	-51.50	-49.31	-48.42	-58.89	-32.26
RPP2	15.82	28.44	4.07	46.36	31.58
NFP2	18.71	7.89	-16.45	36.82	31.58
RT2	15.83	27.49	3.86	46.21	49.11
RPP3	-21.72	-18.85	-23.04	-34.63	-20.43
NFP3	-6.62	-13.89	-15.14	-15.00	-17.78
RT3	-21.96	-19.19	-22.81	-33.67	-20.50
RTOT	-32.80	-29.07	-33.11	-35.96	-17.38

RPP1: rendimiento por planta en el corte número 1; NFP1: número de frutos en el corte 1; RT1: rendimiento total en el corte 1; RPP2: rendimiento por planta en el corte número 2; NFP2: número de frutos en el corte 2; RT2: rendimiento total en el corte 2; RPP3: rendimiento por planta en el corte número 3; NFP3: número de frutos en el corte 3; RT3: rendimiento total en el corte 3; RTOT: rendimiento total.

4.6.2 Invernadero

A los 40 días se manifestó un ataque severo del virus INSV, detectado en diversas muestras de plantas analizadas durante el periodo comprendido del 15 y 16 de diciembre de 2004 en el laboratorio de virus del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo. Debido a esto, los caracteres considerados para este experimento fueron: altura de planta (AP) y número de hojas (HP) a los 7 DDT; altura de planta (AP) y altura a la primera bifurcación (APB) a los 30 DDT, así como severidad (PE) de la enfermedad a los 50 DDT.

4.6.2.1 Análisis a los 7 DDT.

Los análisis de varianza (Cuadro 4.6.2.1) mostraron diferencias significativas para las variables AP tanto en tratamientos como en repeticiones y no significativas en el carácter NH. En consideración de las circunstancias presentadas para este ambiente de evaluación las variables registradas no permitieron un análisis más minucioso.

Cuadro 4.6.2.1 Cuadrados medios del análisis de varianza de los 34 materiales de tomate de cáscara evaluados bajo condiciones de invernadero a los 7 DDT

F.V.	G.L.	AP (cm)	NH
TRAT	33	21.25 *	8.29
REP	3	20.99 *	6.46
Error	99	4.69	5.84
CV (%)		14.74	19.27
R ²		0.62	0.33

F.V.: fuentes de variación; C.V.: coeficiente de variación (%); G.L.: grados de libertad; AP: altura de planta promedio; NH: número de hojas promedio. *: significancia con $\alpha = 0.05$; TRAT: tratamientos; REP: repeticiones.

Según la comparación de medias existieron diferencias significativas sólo en el carácter AP mostrándose superior el tratamiento 23, aunque estadísticamente igual a los progenitores originales (CHF1 Chapingo y Verde Puebla), de los cuales el de mayor AP fue Verde Puebla. El tratamiento que menos desarrollo presentó en esta etapa fue el 27 (7.75 cm), que fue estadísticamente menor al resto de las cruas (Cuadro 4.6.2.2)

Cuadro 4.6.2.2. Prueba de comparación de medias de las variables consideradas a los 7 DDT en el experimento bajo condiciones de invernadero. Chapingo, México. 2004.

TRAT	AP	NH
1	15.000 ab	10.500 a
3	12.000 bcd	11.750 a
4	15.500 ab	11.250 a
5	16.500 ab	12.500 a
6	14.000 abc	13.500 a
7	15.750 ab	15.500 a
8	16.750 ab	13.000 a
10	14.750 ab	11.250 a
11	16.750 ab	13.500 a
12	18.000 ab	14.500 a
13	12.250 bcd	11.750 a
14	16.250 ab	12.000 a
15	13.500 abcd	13.125 a
16	14.500 ab	11.750 a
17	15.750 ab	14.250 a
18	15.000 ab	13.500 a
19	13.750 abcd	10.750 a
20	15.500 ab	12.000 a
21	15.750 ab	12.000 a
22	14.750 ab	12.500 a
23	18.500 a	14.000 a
24	15.000 ab	13.250 a
25	14.250 ab	12.000 a
26	12.750 abcd	12.500 a
27	7.750 d	11.000 a
28	8.000 cd	10.000 a
29	16.000 ab	12.500 a
30	14.000 abc	13.250 a
31	14.500 ab	15.000 a
32	16.500 ab	12.250 a
33	12.500 abcd	10.500 a
34	14.500 ab	10.500 a
35	16.500 ab	13.250 a
36	16.750 ab	15.500 a
DMS	6.016	6.714

AP: altura de planta promedio; NH: número de hojas promedio. DMS: diferencia mínima significativa (Tukey $\alpha = 0.05$); medias con la misma letra en sentido vertical son iguales.

Entre grupos, el progenitor Verde Puebla presentó mayor AP que todos los promedios de cruzas y que la variedad Chapingo, pero no así para NH, en la cual, aunque estadísticamente fue igual al resto de los tratamientos, presentó en promedio menor número de hojas; en contraste con Chapingo que en general presentó un mayor desarrollo de hojas (Cuadro 4.6.2.3).

Cuadro 4.6.2.3. Media de caracteres de progenitores y promedio de cruzas por grupo en tomate de cáscara.

Variables	Progenitores		Cruzas					
	CHF1	V. Puebla	Híbridos clonales	Híbridos al azar	Mejores Híbridos	Peores Híbridos	Media de Híbridos	Híbridos del clon VIII
AP	14.5	16.5	15.0	15.1	10.6	16.3	14.0	15.1
NH	15.0	12.2	12.4	12.7	11.2	12.8	12.8	12.4

AP: Altura de Planta Promedio; NH: Número de Hojas Promedio.

El valor promedio de la heterosis de las cruzas respecto al mejor progenitor fue negativo en todos los casos; aunque estadísticamente estas diferencias son no significativas (Cuadro 4.6.2.4).

Cuadro 4.6.2.4. Porcentaje de heterosis respecto al mejor progenitor del promedio de cruzas bajo condiciones de invernadero a los 7 DDT

Variable	Heterosis (%)					
	Híbridos clonales	Híbridos al azar	Peores Híbridos	Híbridos en la media	Mejores Híbridos	Híbridos del clon VIII
AP	-9.80	-9.2	-1.01	-17.90	-56.00	-9.50
NH	-20.9	-18.0	-16.90	-17.70	-34.40	-20.70

AP: Altura de Planta Promedio; NH: Número de Hojas Promedio.

4.6.2.2 Análisis a los 30 DDT

A los 30 DDT se observaron diferencias significativas entre tratamientos para los caracteres altura de planta (AP), altura a la primera bifurcación (APB) y plantas enfermas (PE), con diferencias no significativas entre repeticiones para AP y PE y coeficientes de variación de 12.7 para los dos primeros caracteres y 25.6 para el tercero (Cuadro 4.6.2.5).

Cuadro 4.6.2.5. Cuadrados medios del análisis de varianza de los 34 materiales de tomate de cáscara evaluados bajo condiciones de invernadero a los 30 DDT.

F.V.	G.L.	AP	APB	PE
TRAT	33	48.23 *	13.24 *	6.53 *
REP	3	59.69 *	8.97	5.78
Error	99	14.19	4.01	2.40
CV (%)		12.69	12.72	25.69
R ²		56.25	54.41	50.02

F.V.: Fuentes de variación; C.V.: Coeficiente de variación (%); G.L.: Grados de libertad; AP: altura de planta promedio; APB: altura de planta a la primera bifurcación promedio; PE: plantas enfermas; *: significancia con $\alpha = 0.05$; TRAT: tratamientos; REP: repeticiones.

Con base en la prueba de comparación de medias (Cuadro 4.6.2.6) existieron diferencias significativas entre tratamientos, donde el tratamiento 11 fue superior en AP y APB pero estadísticamente igual a los progenitores originales, caracteres en el que el progenitor Verde Puebla presentó mayores valores que CHF1 Chapingo, hecho que obedece al hábito de crecimiento (erecto) y mayor capacidad de crecimiento y desarrollo de tallo durante la etapa fisiológica en que fueron tomados los datos. Los dos progenitores originales (31 = CHF1-Chapingo y 32 = Verde Puebla), mantuvieron comportamientos similares y estadísticamente iguales al mejor tratamiento en todos los casos.

Cuadro 4.6.2.6. Prueba de comparación de medias las variables consideradas a los 30 DDT en el experimento bajo condiciones de invernadero. Chapingo, México. 2004.

TRAT	AP	APB	PE
1	27.100 abcd	16.150 abcd	6.500 abcd
3	23.325 d	12.900 abcd	6.250 abcd
4	27.800 abcd	15.600 abcd	6.250 abcd
5	28.500 abcd	17.075 abc	8.250 a
6	25.200 bcd	13.725 abcd	7.500 abc
7	35.475 ab	17.300 abc	4.450 abcd
8	31.575 abcd	16.800 abc	6.000 abcd
10	31.500 abcd	16.250 abcd	5.250 abcd
11	37.225 a	20.400 a	5.750 abcd
12	33.075 abcd	16.725 abc	6.000 abcd
13	24.050 cd	13.025 abcd	9.000 a
14	35.675 ab	16.700 abc	5.000 abcd
15	29.175 abcd	15.000 abcd	6.250 abcd
16	29.350 abcd	15.050 abcd	7.000 abcd
17	30.675 abcd	15.700 abcd	5.000 abcd
18	28.675 abcd	15.375 abcd	6.000 abcd
19	26.600 bcd	14.650 abcd	6.500 abcd
20	30.600 abcd	16.775 abc	5.250 abcd
21	30.225 abcd	18.375 ab	3.750 bcd
22	27.275 abcd	15.550 abcd	6.750 abcd
23	33.400 abcd	17.350 abc	3.500 cd
24	29.000 abcd	15.225 abcd	7.000 abcd
25	28.050 abcd	15.225 abcd	6.750 abcd
26	26.200 bcd	15.225 abcd	5.750 abcd
27	25.800 bcd	11.967 cd	6.667 abcd
28	24.267 cd	10.700 d	8.000 ab
29	28.550 abcd	15.450 abcd	7.000 abcd
30	27.425 abcd	15.000 abcd	7.250 abc
31	28.475 abcd	13.500 abcd	5.750 abcd
32	31.900 abcd	17.800 ab	5.750 abcd
33	29.575 abcd	15.150 abcd	5.750 abcd
34	31.525 abcd	17.050 abc	5.750 abcd
35	34.500 abc	17.900 ab	2.750 d
36	35.050 ab	16.250 abcd	5.000 abcd
DMS	10.573	5.618	4.347

AP: altura de planta promedio; APB: altura de planta a la primera bifurcación promedio; PE: plantas enfermas. DMS: diferencia mínima significativa (Tukey $\alpha = 0.05$); medias con la misma letra en sentido vertical son iguales.

Comparando entre grupos (Cuadro 4.6.2.7) se observa superioridad en el progenitor Verde Puebla en los caracteres AP y APB, aunque estadísticamente son iguales, hecho que obedece al hábito de crecimiento de cada material; no obstante, una planta de buen porte en las primeras etapas fenológicas no necesariamente garantiza que el amarre de frutos y rendimiento siga la misma tendencia en estos materiales, pues como ya se dijo antes la variedad CHF1 Chapingo fue muy superior a la Verde Puebla en rendimiento en el experimento a cielo abierto. Por otra parte, en invernadero se hace necesario el tutoreo, lo que puede favorecer a los materiales de hábito erecto, principalmente en las primeras etapas fenológicas.

Cuadro 4.6.2.7. Media de caracteres de progenitores y cruzas de tomate de cáscara a los 30 DDT.

Variables	Progenitores		Cruzas					
	CHF1	V. Puebla	Híbridos clonales	Híbridos al azar	Mejores Híbridos	Peores Híbridos	Media de Híbridos	Híbridos del clon VIII
AP	28.5	31.9	28.8	30.5	26.2	30.3	27.7	32.6
APB	13.5	17.8	15.7	15.9	12.7	17.1	15.2	16.6
PE	5.7	5.7	5.9	6.2	7.2	4.5	6.7	4.8

AP: altura de planta promedio; APB: altura de planta a la primera bifurcación promedio; PE: plantas enfermas.

El valor promedio de la heterosis de las cruzas respecto al mejor progenitor fue negativo en todos los casos (Cuadro 4.6.2.8), con excepción del carácter PE donde los progenitores en general presentaron mayor susceptibilidad a la enfermedad, aunque los efectos no fueron significativos.

Cuadro 4.6.2.8. Porcentaje de heterosis respecto al mejor progenitor del promedio de cruzas bajo condiciones de acolchado.

Variable	Heterosis (%)					
	Híbridos clonales	Híbridos al azar	Peores Híbridos	Híbridos en la media	Mejores Híbridos	Híbridos del clon VIII
AP	-10.72	-4.55	-5.28	-15.29	-21.72	2.33
APB	-13.19	-11.66	-4.14	-17.34	-40.09	-7.30
PE	3.05	6.88	-27.77	14.02	20.38	-19.46

AP: altura de planta promedio; APB: altura de planta a la primera bifurcación promedio; PE: plantas enfermas.

En general se puede afirmar que la técnica de propagación *in vitro* en tomate de cáscara mediante yemas axilares es un método simple, rápido y que garantiza la conservación del genotipo de los materiales incrementados, pues salvo ciertas rarezas en estos clones no se induce la desdiferenciación (callo) que pueda generar variantes somaclonales o bien mutaciones. Así mismo, para el proceso de cruzas entre variedades sólo se requiere la homogenización de los materiales de interés, ya que los clones conservan todas sus características originales. De lo anterior se concluye que la técnica de micropropagación *in vitro* en tomate de cáscara es viable para hacer cruzas interclonales, pues no modifica el comportamiento de los híbridos respecto a los obtenidos de plantas provenientes de semilla, lo que confirma la hipótesis planteada como premisa del presente trabajo.

4.7 CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos se concluyó que:

- 1) En general, el rendimiento promedio de los progenitores (CHF1-Chapingo y Verde Puebla) fue superior al de las cruzas.
- 2) La variedad CHF1 Chapingo fue el progenitor de mayor rendimiento en condiciones de campo y sólo fue superado por tres cruzas.
- 3) En general, la heterosis promedio por grupo de híbridos, respecto al mejor progenitor, fue negativa en todos los caracteres evaluados, excepto en el número de plantas enfermas por virus.
- 4) Los híbridos interclonales se mantuvieron en la media de todos los materiales evaluados y ninguno se vió superado estadísticamente por el grupo de las mejores cruzas obtenidas de plantas provenientes de semilla botánica.
- 5) La técnica de micropropagación *in vitro* en tomate de cáscara no modificó el comportamiento de los híbridos interclonales respecto a los obtenidos de plantas provenientes de semilla botánica.

4.8 LITERATURA CITADA

- Bajaj, Y. P. S. 1983. *In vitro* production of haploids. In: Handbook of Plant Cell Culture. Vol. I. D.A. Evans, W. R. Sharp, P.V. Ammirato y Y. Yamada (eds). McMillan Pub. Co. New York, USA. Pp 228-287.
- Benson, L., D. 1957. Plant classification. D.C. Heath and Company. Boston, United States of America. 688 p.
- Flores V., J. 1996. Receptividad de estigmas y viabilidad de polen en tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). Tesis de licenciatura. Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas Universidad Autónoma Chapingo, Bermejillo, Durango. 25 p.
- García M., E. 1988. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen. 4ta edición. Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México, D. F. 219 p.
- García L., D.; Jiménez J., W.; Peña L., A.; Rodríguez P., J. E. 2001. Propagación vegetativa de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) mediante enraizamiento de esquejes. Agricultura Técnica en México 27(1): 27-33.
- Gardner y Eberhart, 1966. Analysis and interpretation of the variety cross diallel and related populations. Biometrics 22(3): 439-452.
- Guha, S.C.; Maheshwari, S.C. 1964. *In vitro* production of embryos from anthers of *Datura*. Nature 204: paginas.
- Hallauer, A. R. and J. B. Miranda F. 1981. Quantitative Genetics in Maize Breeding. Iowa State University Press, Ames, Iowa. 468 p.

- Manzo G., A.; A. Ledesma H.; J. C. Villatoro L.; I. Alvarez E.; J. L. Rodríguez D.; A. Peña L. 1998. Regeneración *in vitro* de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). Revista Chapingo Serie Horticultura 4(1): 39-44.
- Márquez S., F. 1988. Genotecnia Vegetal. Métodos Teoría Resultados. Tomo II. AGT EDITOR, S. A. México. Pp: 19-28.
- Menzel, Y. M. 1951. The cytotoxonomy and genetic of *Physalis*. Proc Amer. Philos. Soc. 95(2): 132-183.
- Ortuño O., L.; Manzo G., A.; Peña L., A. 1998. Cultivo de anteras en tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot). Revista Chapingo Serie Horticultura 4(1):39-43.
- Pérez G. M., F. Márquez S. y A. Peña L. 1998. Mejoramiento Genético de Hortalizas. 2ª ed. Ed. Mundi-Prensa México. México. 380 p.
- Peña L., A.; F. Márquez S. 1990. Mejoramiento Genético del tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot). Revista Chapingo 71/72: 84-88.
- Peña L., A.; J. D. Molina G.; F. Márquez S; J. Sahagún C.; J. Ortiz C.; T. Cervantes S. 1997. Respuestas estimadas y observadas de tres métodos de selección en tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). Fitotecnia Mexicana 25(2): 171-178.
- Peña L., A.; J. D. Molina G.; T. Cervantes S.; F. Márquez S; J. Sahagún C.; J. Ortiz C. 1998. Heterosis intervartietal en tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) Revista Chapingo Serie Horticultura 4(1): 31-37.

- Peña L., A.; 1998. Parámetros genéticos, respuesta a la selección y heterosis en tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). Tesis de Doctorado. Colegio de Posgraduados, Montecillo Estado de México. 151 p.
- Peña L., A. y J. F. Santiaguillo H. 1998. Variabilidad genética de tomate de cáscara en México. Boletín Técnico # 2. Programa Nacional de Investigación en Olericultura. Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 26 p.
- Ramírez, R. y N. Ochoa. 1991. Adventitious shoot formation and plant regeneration from tissues of tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) Plant Cell, Tissue and Organ Culture 25: 185-188.
- Ramos M., C. 2000. Propiedades físicas y químicas de los suelos del CAE Chapingo tablas: San Martín y Xaltepa. Departamento de Suelos. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 129 p.
- Sahagún C., J.; F. Gómez R. y A. Peña L. 1999. Efectos de aptitud combinatoria en poblaciones de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). Revista Chapingo Serie Horticultura 5(1): 23-27.
- Santiaguillo H., J. F.; R. López M.; A. Peña L.; J. A. Cuevas S.; J. Sahagún C. 1994. Distribución, colecta y conservación de germoplasma de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). Revista Chapingo Serie Horticultura 2: 125-129.
- Santiaguillo H., J. F.; T. Cervantes S.; A. Peña L.; J. D. Molina G.; J. Sahagún C. 2002. Heterosis en híbridos intervarietales de tomate de cáscara

(*Physalis ixocarpa* Brot.). In: XIX Congreso Nacional de Fitogenética. 1-5 de septiembre, Saltillo Coahuila. paginas

Santiaguillo H., J. F.; T. Cervantes S.; A. Peña L. 2004. Selección para rendimiento y calidad de fruto de cruza planta x planta entre variedades de tomate de cáscara. Revista Fitotecnia Mexicana. 27(1): 85-91.

Santiaguillo H., J. F. 2003. Cruzas intervarietales planta a planta, enraizamiento de esquejes y polinización controlada en tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) Tesis de Doctorado. IREGEP. Genética .Colegio de Postgraduados, Montecillo Estado de México. 85 p.

ANEXOS

Experimento

CIELO ABIERTO, ACOLCHADO Y RIEGO POR GOTEO

03/MAYO/2004

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
13	12	28	1	35	30	26	23	17	9	39	32	36	10

28	27	26	25	24	23	22	21	20	19	18	17	16	15
31	37	41	33	7	3	15	24	40	14	25	5	2	29

29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42
11	18	4	19	8	21	38	34	20	6	42	22	16	27

REPETICIÓN I

14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1
20	22	23	26	21	3	39	29	27	5	13	8	16	40

15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
9	2	14	25	28	42	7	10	34	19	18	31	12	24

42	41	40	39	38	37	36	35	34	33	32	31	30	29
38	30	15	37	41	11	6	1	17	33	4	36	32	35

REPETICIÓN II

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
40	30	23	38	7	1	32	15	21	14	33	2	16	37

28	27	26	25	24	23	22	21	20	19	18	17	16	15
29	41	18	6	35	36	12	17	22	5	39	3	24	25

29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42
28	27	34	31	26	8	42	4	20	10	19	13	11	9

REPETICIÓN III

Campo Agrícola experimental San Martín (Lote SM-4) de la Universidad Autónoma Chapingo, Edo. México

INVERNADERO Y RIEGO POR GOTEO

07/SEPTIEMBRE/2004

REPETICIÓN II

REPETICIÓN III

REPETICIÓN I

REPETICIÓN IV

15		8	
30		32	
19		15	
29		26	
20		20	
27		16	
24		10	
17		30	
8		28	
1		13	
5		43	
21		4	
3		46	
23		6	
26		12	
11		19	
6		11	
7		24	
13		7	
28		45	
32		27	
12		5	
18		14	
10		44	
22		23	
43		29	
46		22	
45		25	
4		17	
25		3	
14		1	
16		21	
31		18	
44		31	
29		20	
22		12	
44		4	
26		10	
31		23	
24		26	
3		11	
17		6	
25		24	
13		3	
14		28	
5		15	
4		32	
6		43	
8		7	
32		19	
45		5	
7		13	
15		14	
11		25	
27		8	
46		16	
19		17	
43		21	
30		45	
28		18	
12		27	
10		1	
20		44	
1		45	
18		22	
21		29	
16		31	
23		30	

Invernadero del Campo Agrícola experimental de la Universidad Autónoma Chapingo, Edo.