

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA  
DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO



Comparación de la Calidad y Rendimiento de Semilla de Tetraploides  
y un Diploide de *Physalis ixocarpa* Brot. Producida en el  
Sur del Estado de Coahuila

TESIS

Por:

**JABNEEL GARCÍA BUENROSTRO**

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN**

Saltillo, Coahuila, México  
Mayo 2015

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA  
DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO

Comparación de la Calidad y Rendimiento de Semilla de Tetraploides  
y un Diploide de *Physalis ixocarpa* Brot. Producida en el  
Sur del Estado de Coahuila

Por:

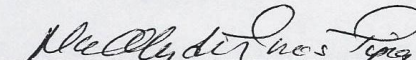
**JABNEEL GARCÍA BUENROSTRO**

TESIS

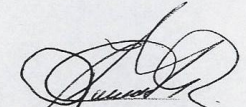
Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN**

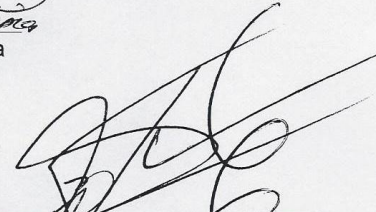
Aprobada

  
M.P. María Alejandra Torres Tapia

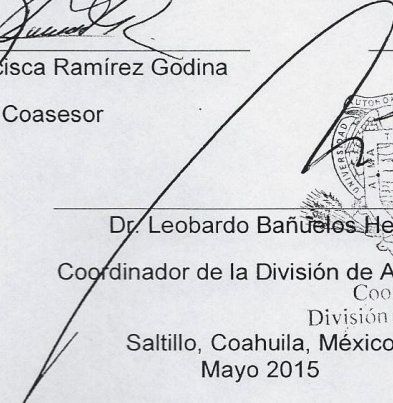
Asesor Principal

  
Dra. Francisca Ramírez Godina

Coasesor

  
Dr. Víctor Manuel Zamora Villa

Coasesor

  
Dr. Leobardo Bañuelos Herrera

Coordinador de la División de Agronomía  
Coordinación  
División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México  
Mayo 2015

## **DEDICATORIA**

*Para ti que eres la luz de mi vida y mi motivo para seguir C.D.C.L.*

## **AGRADECIMIENTOS**

### ***A Dios***

*Por darme fuerza y sabiduría cada día y haberme permitido la vida para poder terminar esta etapa, por cada persona que pusiste en mi camino. Gracias a ti estoy aquí (Josue 1:8-9).*

### ***A mis padres***

*Por brindarme su apoyo y amor incondicional siempre así como su confianza plena, por todas sus enseñanzas y la sabiduría que me transmitieron así como los valores que adquirí de su parte.*

*Gracias a ustedes yo soy el hombre que soy ahora.*

### ***A mis maestros.***

*Por ser esa luz que me condujo al camino de la vida, por compartir conmigo sus conocimientos y experiencias, por su paciencia y esmero y por ser un ejemplo para mi.*

### ***A mi novia.***

*Por brindarme tu compañía y amor cada día, por apoyarme y estar conmigo cuando mas lo necesité, eres una de mis motivaciones para salir adelante.*

### ***A mis amigos.***

*Por estar siempre conmigo y apoyarme.*

**"La agricultura es la profesión propia del sabio, la más adecuada al sencillo y la más digna para todo hombre libre"**

**Cicerón.**

## ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pag
<b>RESUMEN</b> .....	1
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	3
<b>OBJETIVO GENERAL</b> .....	4
Objetivos específicos.....	4
<b>HIPÓTESIS</b> .....	4
<b>REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	5
Producción nacional.....	5
Descripción botánica.....	6
Taxonomía.....	7
<b>Producción del cultivo</b> .....	8
Requerimientos ambientales.....	8
Preparación de terreno.....	9
Prácticas culturales.....	9
Método y densidad de siembra.....	11
Riegos.....	11
Fertilización.....	12
Cosecha.....	12
<b>Mejoramiento genético en tomate de cáscara</b> .....	12
<b>Poliploidía</b> .....	14
<b>Producción de semilla</b> .....	14
<b>Producción de semilla diploide contra tetraploide</b> .....	16
<b>Calidad de semilla</b> .....	16
<b>Tratamiento biológico a semillas</b> .....	18
<i>Género Bacillus spp.</i> .....	19
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	20
<b>Ubicación del sitio experimental</b> .....	20
<b>Material genético</b> .....	20
<b>Manejo de poscosecha</b> .....	20
Cosecha.....	20
Extracción de semilla.....	21
Secado de semilla.....	22
Acondicionamiento.....	23
<b>Tratamientos</b> .....	23
<b>Variables evaluadas</b> .....	24
<b>Calidad física</b> .....	25
Peso volumétrico.....	25
Pureza física.....	26
<b>Calidad fisiológica</b> .....	26
Porcentaje de viabilidad.....	26

Capacidad de germinación fisiológica (G, PN, PA, SSG) .....	27
Vigor (LMR y LMH).....	28
Peso seco de plántula (PS).....	28
Diseño experimental.....	29
Análisis estadístico.....	29
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>30</b>
<b>Rendimiento de semillas.....</b>	<b>30</b>
<b>Calidad física.....</b>	<b>32</b>
<b>Calidad fisiológica.....</b>	<b>35</b>
<b>Interacción genotipo por tratamiento y concentraciones.....</b>	<b>41</b>
<b>Vigor (LMR y LMH).....</b>	<b>44</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>51</b>
<b>LITERATURA CITADA.....</b>	<b>52</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

No. Cuadro		Pág
2.1	Ubicación del tomate de cáscara dentro de la producción total de cultivos hortícolas en el año 2013, a nivel nacional.....	6
3.1	Clave de identificación de los genotipos tetraploides y el testigo producidos en General Cepeda, 2014.....	21
3.2	Tratamientos y concentraciones aplicados a la semilla de tetraploides y el diploide de tomate de cáscara.....	24
4.1	Análisis de varianza en el rendimiento de 14 genotipos de tomate de cáscara.....	30
4.2	Resultados de la prueba de comparación de medias en el rendimiento de 14 genotipos de tomate de cáscara en condiciones de laboratorio.....	31
4.3	Análisis de varianza en la calidad física de 14 genotipos de tomate de cáscara en condiciones de laboratorio.....	32
4.4	Resultados de la prueba de comparación de medias en la calidad física de 14 genotipos de tomate de cáscara en condiciones de laboratorio.....	33
4.5	Análisis de varianza y comparación de medias en la viabilidad de 14 genotipos de tomate de cáscara en condiciones de laboratorio.....	35
4.6	Análisis de varianza en la capacidad de germinación de 14 genotipos de tomate de cáscara, tratada con dos productos comerciales (Sonata y Serenade) a cuatro concentraciones bajo laboratorio.....	37
4.7	Resultados de la prueba de comparación de medias en la capacidad de germinación de 14 genotipos de tomate de cáscara realizadas bajo laboratorio.....	38
4.8	Resultados de la prueba de comparación de medias en la capacidad de germinación de semillas tomate de cáscara tratadas productos biológicos comerciales. ....	39
4.9	Resultados de la prueba de comparación de medias en la calidad fisiologica en semillas de 14 genotipos de tomate de cáscara tratados con cuatro concentraciones. ....	41
4.10	Análisis de varianza del vigor en 14 genotipos de tomate de cáscara tratados con productos comerciales (Sonata y Serenade) en diferentes concentraciones.....	45
4.11	Resultados de la prueba de comparación de medias en la calidad fisiológica mediante el vigor de 14 genotipos de tomate de cáscara tratadas con productos biológicos comerciales en condiciones de	

	laboratorio.....	46
4.12	Resultados de la prueba de comparación de medias en la calidad fisiológica para pruebas de vigor de 2 tratamientos en semilla de tomate de cáscara tratados con productos comerciales (Sonata y Serenade).....	47
4.13	Resultados de la prueba de comparación de medias en la calidad fisiológica para pruebas de vigor en semillas de tomate de cáscara tratados con cuatro concentraciones.....	48

## ÍNDICE DE FOTOS

No. Foto		Pag
3.1	Tipo de empaque e identificación en los materiales genéticos estudiados.....	21
3.2	Pesado y extracción de la semillas por fruto.....	22
3.3	Semilla identificada por material.....	22
3.4	Partes del equipo South Dakota, soplador utilizado para el beneficio de la semilla, (a) tubo del soplador; (b) la abertura que se manejo fue de 1.5 cm; (c) la semilla pura permanecio en la parte inferior del tubo.....	23
3.5	testigo aplicados a semillas en diferentes concentraciones.....	24
3.6	testigo utilizado para obtener el peso volumétrico.....	26
3.7	testigo utilizado para realizar la prueba de viabilidad por tetrazolio: pelet con la semilla remojada en su interior (a), recipiente contenedor del tetrazolio (b) y estereoscopio (c).....	27
3.8	Cajas petri sembradas (a) e inoculación de las cajas petri con la ayuda de una micropipeta colocando 4 ml de dilución por caja (b)....	27
3.9	Se midió cada plántula normal con una regla de 30 cm.....	28

## ÍNDICE DE FIGURAS

No. Figura		Pag
4.1	Respuesta del peso volumétrico antes y después del acondicionamiento en semilla de tomate de cáscara de 14 genotipos expresado en kg/hl .....	34
4.2	Respuesta de la calidad fisiológica general de 14 genotipos de tomate de cáscara tratada con dos productos biológicos en condiciones de laboratorio.....	38
4.3	Respuesta de la calidad fisiológica de los genotipos tratados con dos productos biológicos comerciales en las concentraciones 25, 50 y 75 % en laboratorio .....	40
4.4	Interacción de 14 genotipos, dos tratamientos y cuatro concentraciones para la variable G fisiológica bajo condiciones de laboratorio .....	42
4.5	Interacción de 14 genotipos, dos tratamientos y cuatro concentraciones para la variable PA bajo condiciones de laboratorio..	43
4.6	Interacción de 14 genotipos, dos tratamientos y cuatro concentraciones para la variable PA bajo condiciones de laboratorio..	43
4.7	Interacción de 14 genotipos, dos tratamientos y cuatro concentraciones para la variable SSG bajo condiciones de laboratorio.....	44
4.8	Cuadros comparativos de los dos tratamientos biológicos (Sonata y Serenade) y su influencia en el crecimiento radicular LMR y vegetativo LMH.....	47
4.9	Interacción de 14 genotipos, dos tratamientos y cuatro concentraciones para la prueba de vigor LMR bajo condiciones de laboratorio.....	49
4.10	Interacción de 14 genotipos, dos tratamientos y cuatro concentraciones para la prueba de vigor LMH bajo condiciones de laboratorio.....	50



## RESUMEN

Los rendimientos en especies con variabilidad genética como el tomate de cáscara logran obtener en promedio nacional 15.58 t ha<sup>-1</sup>, considerado un bajo rendimiento, debido a diferentes factores entre ellos las variedades de semillas utilizadas en su producción; por lo que hoy en día, algunos investigadores se han dedicado a generar materiales genéticos poliploides, como es tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa Brot.*) tetraploide; sin embargo se necesita obtener mayor información relevante acerca de la calidad de semilla producida a partir de estos materiales con manejo genético. El presente trabajo se llevó a cabo en el laboratorio de producción de semillas de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Se determinó la calidad y el rendimiento de semilla de 13 genotipos tetraploides seleccionados y un diploide comercial (variedad Rendidora) desarrollados en General Cepeda Coahuila. Las variables evaluadas fueron: Peso de semilla por fruto (PSF) y número de semilla por fruto (NSF), porcentaje de semilla pura (SP), Materia Inherente (MI), peso volumétrico antes del acondicionamiento (PVA) y peso volumétrico después del acondicionamiento (PVD), porcentaje de viabilidad (PV), germinación (G), plántulas normales (PN), plántulas anormales (PA), semilla sin germinar (SSG), longitud media de radícula (LMR), longitud media de hipocotilo (LMH) y peso seco (PS).

Además se estudió la respuesta fisiológica de los mismos genotipos (g) tratando la semilla con dos tratamientos biológico a base de bacterias *Bacillus pumilus* (nombre comercial, Sonata) y *Bacillus subtilis* (nombre comercial, Serenade) en cuatro concentraciones (0, 25, 50 y 75%),

con el fin de recomendar un tratamiento y concentración para la efectiva germinación de esta especie.

Por medio de los análisis estadísticos se concluyó que el genotipo diploide (Rendidora) fue superior a los materiales genéticos tetraploides en el rendimiento de semilla dado por las variables PSF, NSF, así mismo en la calidad física de la semilla producida en el PVA y PVD donde registró valores más altos; sin embargo en la calidad fisiológica en el porcentaje de viabilidad, los tetraploides obtuvieron mayor viabilidad en la semilla sobresaliendo los genotipos g10, g9 y g12 quedando por debajo de ellos el testigo diploide (Rendidora).

En la aplicación de tratamientos biológicos, se encontró que mejor resultado en la respuesta fisiológica lo obtuvo el tratamiento con la bacteria *Bacillus pumilus* (Sonata) al presentar el mayor porcentaje de germinación fisiológica (G) y el mayor porcentaje de Plántulas Normales (PN), además de reflejar el mayor valor de vigor a través de la longitud media de radícula e hipocotilo. Y fue más efectiva una concentración de 25 % por promover una mayor germinación fisiológica (G) y mayor porcentaje de PN, además de favorecer el crecimiento radicular y el hipocotilo de g4 y g5 y por ende el peso seco de las plántulas resultantes.

PALABRAS CLAVE: TOMATE DE CÁSCARA, *Physalis ixocarpa* Brot. PRODUCCIÓN DE SEMILLA, TRATAMIENTO BIOLÓGICO A SEMILLAS, GÉNERO *Bacillus* Spp. ,

Correo electrónico: Jabneel Garcia Buenrostro, [jabneel.garcia@gmail.com](mailto:jabneel.garcia@gmail.com)

## INTRODUCCIÓN

El tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.), también conocido como tomatillo, es un cultivo que está incluido en la familia de las solanáceas; se conoce en México desde tiempos precolombinos. Se han localizado vestigios de su uso como alimento en excavaciones hechas en el valle de Tehuacán, Puebla que datan del año 200 al 900 a.C.

La palabra tomate proviene del vocablo náhuatl “ayacachtomatl” cuyas etimologías corresponden a: ayacah (tli) = sonaja, cascabel y tomatl = tomate (Sánchez *et al.*, 2006).

En las últimas dos décadas esta especie se ha consolidado como una de las principales hortalizas en México, ocupando el séptimo lugar de producción en el país y es un cultivo potencial en diferentes países de América y Europa (Santiaguillo *et al.*, 1997) siendo también una de las principales hortalizas exportadas por nuestro país teniendo una producción nacional de 700 mil toneladas.

A pesar de la amplia variabilidad genética, tanto en el tomate silvestre como en el domesticado, el rendimiento medio nacional es de 15.58 t ha<sup>-1</sup>, el cual se considera bajo, de acuerdo al rendimiento potencial de 40 t ha<sup>-1</sup> esto debido a los bajos niveles de tecnificación, escasez de agua, de insumos agrícolas y de una semilla de calidad.

La investigación enfocada a la producción de semilla de materiales poliploides, en este caso tomate de cáscara tetraploide, es limitada, por lo cual este trabajo esta enfocado en obtener información relevante acerca de la cantidad y calidad de semilla producida a partir de materiaes tetraploides obtenidos con aplicación de colchisina.

Aunado a la suma importancia en la producción de tomate y otros cultivos, es la utilización de los potencializadores del crecimiento, sustancias que afectan positivamente a las semillas para que esta tenga una mejor germinación, y emergencia; como es el caso de las bacterias del género *Bacillus*, que han sido ampliamente estudiadas y aplicadas como tratamiento biológico a semilla para brindar a estas una ayuda en su proceso metabólico y así obtener plántulas de calidad, con una formación adecuada de su sistema radicular que le permita generar una planta sana y productiva, por ello se proposieron los objetivos e hipótesis siguientes:

### **Objetivo general**

- Comparación de tetraploides y diploides de tomate de cáscara mediante su rendimiento y calidad de semilla producida en el Sur del Estado de Coahuila.

### **Objetivo específicos**

- Comparación de las semillas producidas de tetraploides seleccionados y el diploide (variedad Rendidora) de tomate de cáscara mediante su rendimiento, calidad física y fisiológica.
- Efecto de la aplicación de tratamientos y concentraciones de productos biológicos a base de bacterias en variedades Rendidora y mejoradas de tomate de cáscara mediante su respuesta fisiológica.

### **Hipótesis**

- Hay un material mejorado sobresaliente de tomate de cáscara que es mejor en rendimiento y calidad de semilla que la variedad Rendidora.

- Al menos un tratamiento y una concentración de un producto biológico a base de bacterias tiene un efecto positivo en alguno de los materiales genéticos estudiados favoreciendo su germinación y vigor.

## **REVISIÓN DE LITERATURA**

### **Producción nacional**

El tomate de cáscara se cultiva en 29 de los 32 estados del país, sobre un superficie de 43.505 ha en 2012, con una producción de 595.197 t, y un rendimiento medio de 14,37 t/ha<sup>-1</sup>. De la superficie cultivada en 2012, el 74,32% fue bajo condiciones de riego y el 25,68% fue bajo temporal. Los principales estados productores son Sinaloa, Jalisco, Sonora, Puebla, Nayarit, Estado de México, Michoacán, Hidalgo Morelos, Guanajuato y Tlaxcala. En 2012 la superficie de tomate de cáscara cultivada en el estado de Guanajuato fue de 974ha, con un rendimiento medio de 11,51 t/ha<sup>-1</sup> (SIAP, 2014).

En los últimos 10 años en México, se ha venido incrementando la superficie de cultivo de esta hortaliza en un 4,4% (Fundación Produce Puebla, 2007), debido a que es un buen sustituto del jitomate, por ser un cultivo que no requiere muchos cuidados y por tener un muy buena aceptación en el mercado nacional y extranjero, además de ser una hortaliza de un ciclo vegetativo corto (Fundación Produce Sinaloa, 2007).

Sin embargo, su producción se ve afectada por varios factores, tales como plagas, enfermedades y la maleza, que llegan a causar serios daños a los cultivos hortícolas por competir fuertemente por luz, agua, nutrientes y espacio, así como por ser hospederas de plagas y enfermedades y en algunas

ocasiones por inhibir el crecimiento a través de exudados alelopáticos radicales (Díaz y Pérez, 2005).

El tomate de cascara ocupa el séptimo lugar de superficie cultivada a nivel nacional, con 44,522.36 has como se describe en Cuadro 2.1.

**Cuadro 2.1 Ubicación del tomate de cáscara dentro de la producción total de cultivos hortícolas en el año 2013, a nivel nacional.**

Orden	Cultivo	superficie sembrada (ha)
1º	Chile verde	152,742.37
2º	Papa	69,054.26
3º	Elote	56,903.80
4º	Tomate rojo (jitomate)	53,780.18
5º	Cebolla	48,638.91
6º	Sandia	45,686.94
<b>7º</b>	<b>Tomate de cáscara</b>	<b>44,522.36</b>

Fuente: SIAP, producción agrícola, cultivo: tomate de cáscara modalidad: riego y temporal, 2014.

### **Descripción botánica**

De acuerdo a lo que señala Alvarado e Ibidem (Citados por Martínez, 2013), el tomate de cáscara es una planta herbácea, anual, de 40 a 120 cm de altura o más dependiendo de los hábitos de crecimiento. Con las siguientes características.

#### **Raíz**

Típica o columnar, presenta ramificaciones secundarias profundas que pueden alcanzar hasta 60 cm. o más. En sistema de plantación sufre una modificación transformándose en fibrosas y de poca penetración al suelo, es por eso que se recomienda hacer trasplantes directos de charola, no de almácigo (Ibidem, 1995).

#### **Tallo**

El tallo es estirado, herbáceo o ligeramente leñoso en la base; ramas primarias de 0.08 a 2.3 cm. de diámetro; en los primeros días de vida se presentan pubescencias esparcidas en el tallo, hojas y ramas las cuales se pierden a medida que van creciendo (Alvarado, 1995).

## **Hojas**

Las hojas son simples, erectas, alternas de forma ovalada de 5 a 10 cm de largo por 4 a 6 cm de ancho, base atenuada, ápice agudo con márgenes irregulares dentados, por lo general presentan 6 dientes por cada lado. Presentan peciolo, el cual es de 4 a 6 cm de largo (Ibidem, 1995).

## **Flores**

Las flores son bisexuales, perfectas o hermafroditas, solitarias y salen de la dicotomía de las ramas pequeñas, pentámeras, con bordes de color amarillo brillantes, anteras azules o azules-verdes. La corola mide de 1 a 2,7 cm de diámetro, color amarillo, aunque algunas veces es púrpura y descolorida en el centro, acampanulada o circular, presentan lóbulos plegados y estambres insertados en la base de la corola, el estigma presenta dos hendiduras, casi bilobulado, (*Ibidem*, 1995).

## **Fruto**

Alvarado (1995) señala que, el fruto es una baya amarilla verdusca carnosa y globosa de tamaño variable de 1 a 6 cm de diámetro ecuatorial de sabor ácido dulce, 1.8 a 4.3 cm de largo por 2.5, con 10 costillas (nervaduras), que en algunos casos son de color morado, se encuentra envuelto por el cáliz que es amplio, con dimensiones de 4 a 6 cm de ancho con margen irregularmente dentado con 10 costillas que en algunos casos es de color morado y con la característica de persistencia aun después de la maduración del fruto. Los pecíolos miden de 0.6 cm a 1 cm de largo. La baya contiene gran cantidad de semilla, teniendo un diámetro de 1 a 6 cm. La semilla es

pequeña, lisa, de color amarillo, la cual puede guardar su poder germinativo hasta 7 u 8 años.

### **Taxonomía**

Con base en Whitaker (1969), Cronquist (1993) y D'Arcy (1979) la clasificación taxonómica del género *Physalis* es la siguiente:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Dicotiledoneae (magnoliopsidae)

Subclase: Asteridae

Orden: Solanales

Familia: Solanaceae

Subfamilia: Solanoideae

Tribu: Solaneae

Género: *Physalis*

Subgénero: *Ixocarpa* Brot.

### **Producción del cultivo**

#### **Requerimientos ambientales**

##### **Suelo**

El suelo que requiere este cultivo es del tipo arcillo-arenoso, con disponibilidad de riego en regiones donde la humedad suficiente para el desarrollo del cultivo (*Castillo*, 1990).

##### **Temperatura**

El nivel adecuado de temperaturas para la germinación del tomate de cáscara es de 20 a 30 °C (*Ayala*, 1992). Las temperaturas óptimas para su desarrollo son de 20 a 25°C, con temperaturas de 30°C el crecimiento



disminuye y puede cesar a los 40. En la floración se requiere temperaturas de 30 a 32 °C, mayores de 32 pueden provocar deshidratación del tubo polínico, provocando una polinización incompleta y frutos mal formados (Castillo, 1990).

### **Humedad**

La humedad es más requerida en las etapas de germinación y emergencia. En la etapa de trasplante es exigente con respecto a la siembra. El resto del ciclo, incluyendo la floración, necesita de un 60% de la capacidad de campo. En condición de sequía del suelo, el tomate tiende a emitir rápidamente flores, se acelera la maduración de los frutos pequeños, en bajo número y algunos se deforman tomando sabor ácido (Ibidem, 1990).

### **Preparación del terreno**

Es recomendable tener un terreno con buen nivel, para lo cual es útil una buena nivelación.

Para que alcance un buen desarrollo de la raíz, es necesario realizar un barbecho de aproximadamente 25 centímetros de profundidad, seguido de una cruz si se considera conveniente. Posteriormente deben darse los pasos de rastra que se requieran para dejar el suelo bien mullido y desmenuzado, con lo que se obtendrá un adecuado desarrollo radical de la planta.

Se recomienda que la distancia entre surcos sea de 1.0 a 1.2 metros, ya que en distancias menores, a pesar de tener mayor densidad de población, no se consigue un incremento significativo en la producción.

En el caso de temporal, es conveniente hacer los surcos altos, mayores de 20 centímetros para evitar el exceso de humedad con buen drenaje.

### **Prácticas culturales**

### **Limpieza del área**

Consiste en tener los alrededores del cultivo limpio de malezas, ya que estas son hospederas de plagas y enfermedades que afectan al cultivo. Se recomienda que se haga una aplicación de pesticidas en los arbustos y árboles de los alrededores, para el control de los insectos.

### **Tutoreo**

Esta actividad consiste en ponerle un sostén a las plantas para el mejor manejo del cultivo y mayor aprovechamiento de los frutos. El ahoyado y colocación de los tutores se realiza inmediatamente después del trasplante; los tutores deben medir 2.5 metros o más dependiendo de la altura de la variedad y deben colocarse con un distanciamiento de 3 metros entre cada uno. Las plantas se sostienen con hileras de alambre galvanizado o pita de nylon las cuales deben colocarse según el crecimiento de la planta cada 30 centímetros, es importante que las guías se vayan ordenando para evitar su caída.

### **Aporcado**

Se recomienda hacerlo a los 15 o 25 días después del trasplante, para favorecer el desarrollo de raíces en el tallo. Se aprovecha para eliminar malezas y a la vez para incorporar fertilizantes; al mismo tiempo proporciona una mayor firmeza a la planta. Debe realizarse con precaución, para no causar daño a las raíces dar paso a las enfermedades. Además con esta labor se incentiva a la planta a generar raíces adventicias.

### **Mantenimiento de camas**

Es necesario mantener siempre las camas altas y que no pierdan la forma durante el laboreo de las parcelas.

### **Mantenimiento de drenes**

Actividad indispensable durante la época lluviosa, para evitar encharcamientos que puedan afectar el desarrollo del cultivo.

### **Poda**

Es una práctica común en cultivares de mesa de crecimiento indeterminado y consiste en la eliminación de los brotes de crecimiento nuevos, para manejar solo los brotes seleccionados, dejando 2 ó 3 ejes principales; en algunos casos se acostumbra podar flores y frutos con el objetivo de uniformizar el tamaño de los frutos y que éstos ganen peso. También la poda puede realizarse para eliminar hojas dañadas por enfermedades, a esta poda se le llama poda sanitaria.

### **Método y densidad de siembra**

La siembra puede realizarse mediante dos métodos, siembra directa y trasplante.

### **Siembra directa**

Cuando se usa un equipo de siembra de precisión se requiere aproximadamente 400-500 g de semilla por hectárea, usando un equipo mecánico de 500- 800 g/ha y manualmente de 800-1000 g/ha, se recomienda que la distancia entre mata sea de 50 cm.

### **Trasplante**

El trasplante se lleva a cabo cuando la planta tiene aproximadamente 10 cm de alto, se colocan 4 plantas por metro lineal, en sistema de plantación se requieren entre 22,000 y 24,000 plantas por hectárea, es necesario que la raíz se encuentre muy húmeda así como el terreno al momento de plantar.

### **Riegos**

Existen diferentes tipos de tecnologías en los sistemas de riego como cintillas con acolchado, aspersión, gravedad sin embargo los riegos se

realizan de acuerdo con la tecnología que ostenta el productor, por lo se debe ser cuidadoso para no someter el cultivo a deficiencias o excesos de agua. Es importante la buena distribución del riego durante todo el ciclo del cultivo, principalmente antes de la formación de frutos.

En cuanto al manejo del riego, es necesario considerar el desarrollo del cultivo, es decir que el tiempo de riego diario dependerá del tamaño de la planta, necesitándose regar muy poco tiempo recién trasplantado el cultivo e ir aumentando el tiempo de riego según sea el crecimiento de la planta.

### **Fertilización**

Para hacer una eficiente aplicación de fertilizantes es necesario realizar un análisis del suelo debido a que cada terreno tiene diferentes necesidades de nutrientes, Los nutrientes que preferentemente son usados para el tomate de cáscara son la urea, sulfato de potasio y 17-17-17.

El fertilizante se puede aplicar entre 6 y 8 pulgadas de profundidad al centro del surco y completar la fertilización al cierre de cultivo.

### **Cosecha**

El indicador que se toma para saber cuando debemos cosechar el tomate es cuando existe un alto porcentaje de frutos hayan llenado el cáliz (bolsa) que lo cubre, es muy importante vigilar que la cosecha se haga con sumo cuidado para obtener al máximo de calidad y cantidad.

En algunos casos es recomendable dar un riego ligero con algunos nutrientes después del primer corte.

Un cultivo de tomate de cáscara manejado con sumo cuidado puede rendir hasta 35 toneladas o más; sembrando variedades que marquen la diferencia en los mercados para obtener mejores resultados a la hora de la comercialización. El rendimiento promedio nacional es de  $15.58 \text{ t/ha}^{-1}$ , el cual

se considera bajo con relación al potencial productivo del cultivo, que se estima en 40 t/ha<sup>-1</sup> (Peña, 2001).

### **Mejoramiento genético en tomate de cáscara**

En mejoramiento genético tradicional de plantas autogamas se basa principalmente en la obtención de líneas puras, las que una vez seleccionadas por sus características de rendimiento, de adaptabilidad y de calidad, pasan a la categoría de variedades mejoradas requiriendo mucho tiempo, iniciando el programa de fitomejoramiento con cruzas entre líneas puras o entre variedades regionales, donde estas últimas son poblaciones heterogéneas, con el propósito de incorporar caracteres favorables o sobresalientes de los progenitores por medio de la segregación y recombinación genética (Márquez, 1988; Robles, 1986).

En tomate de cáscara, el mejoramiento está limitado por la autoincompatibilidad que presenta, la cual impide la obtención por autofecundación de líneas endogámicas para la formación de híbridos (Peña y Márquez, 1990; Pérez *et al.*, 1997). Según Pandey (1957), dicha autoincompatibilidad es de tipo gametofítico y está determinada por dos loci independientes, cada uno con alelos múltiples; se manifiesta después de la polinización, cuando uno o dos alelos presentes en el polen también lo están en el estilo. En esta condición el polen generalmente no llega a germinar; cuando germina, el tubo polínico no penetra en el estigma, y si lo hace crece lentamente a lo largo del estilo, pero raras veces fecunda al óvulo (Pérez *et al.*, 1997) y entonces la autoincompatibilidad no es absoluta (Inzunza *et al.*, 1999). Con la autofecundación artificial se favorece la presencia de alelos autoincompatibles y se producen frutos partenocárpicos (Peña *et al.*, 1998) y un número reducido de frutos con semilla. Esta semilla puede ser sexual o apomíctica (Inzunza *et al.*, 1999); la sexual significa la posibilidad de generar líneas endogámicas, tópico que aún no se ha explorado.

Debido al fenómeno de autoincompatibilidad gametofítica en tomate de cáscara y a que los frutos provenientes de autofecundación son principalmente partenocárpicos, se han formado híbridos intervarietales sin necesidad de emasculación de las flores, los cuales experimentalmente superan el rendimiento de fruto del mejor progenitor en 14.3 % (Peña *et al.*, 1998) y 138.7 % Sahagún *et al.*, (1999). Santiaguillo (2004), obtuvieron híbridos de cruce simple entre plantas de dos variedades (A y B), superiores en rendimiento hasta en 39.2 % al híbrido intervarietal A x B. Otra manera de llegar a un rendimiento superior es la duplicación genómica, que induce caracteres tales como incremento en tamaño celular y modificaciones en la tolerancia ecológica (Parisod *et al.*, 2010). Asimismo, la poliploidía tiene el potencial de generar plantas más vigorosas.

### **Poliploidía**

En los últimos años el mejoramiento genético de la especie *Physalis ixocarpa* Brot ha evolucionado, el uso de colchicina como inductor de poliploidía en dicho cultivo es una práctica que ha ayudado en la selección de materiales sobresalientes en rendimiento. Con esta estrategia se han formado tetraploides, con rendimientos comerciales de 40 t/ha<sup>-1</sup> (Ramírez *et al.*, 2010). El rendimiento está dado por factores como peso y tamaño de fruto, así como número de frutos por planta, por lo que la utilización de poliploides es importante pues según Cubero (Citado por Santana *et al.*, 2012), los poliploides suelen presentar gigantismo y las células suelen ser mayores o de diferente forma, lo cual influye directamente en el peso del fruto. Sin embargo, como productores de semilla, los genotipos tetraploides están en desventaja, Nakamura (Citado por Robledo *et al.*, 2012) indica que los tetraploides, comparados con los diploides, poseen baja fertilidad del polen, flores y granos de polen grandes, esto influye directamente en la producción de semillas pues sabemos que sin una polinización adecuada no contaremos con una gran cantidad de semillas, Sin embargo las semillas de tetraploides tienen un mejor desarrollo pues al ser plantas de comportamiento más tardío, se puede tener

mayor crecimiento radical e índice de área foliar, que les permite mayor capacidad de absorción y síntesis de metabolitos secundarios como las vitaminas (Robledo *et al.*, 2012).

### **Producción de semilla**

Según Breadford y Nongaky (Citados por Melgarejo *et al.*, 2010), la propagación sexual de las plantas se da por medio de las semillas, las cuales tienen la función de multiplicar y perpetuar la especie, por lo que la producción de semillas es un área sumamente importante pues al obtener una semilla saludable tanto física como fisiológicamente podemos garantizar una correcta germinación y emergencia, que son los factores que marcan la pauta para obtener un cultivo sano y productivo y así garantizar los alimentos que necesita el ser humano.

La producción de semilla de tomate de cáscara, es como en varias otras hortalizas un delicado proceso que inicia con la polinización, ya sea por insectos o manual, proceso que incluye la emasculación de flores femeninas, transporte de polen y polinización pues este es un factor que influye directamente en los rendimientos cuali y cuantitativos de los cultivos destinados a la producción de frutos y semillas (Raigon, 2010). Al realizarse la fecundación comenzará la formación del fruto y semillas, le daremos los cuidados requeridos y esperaremos a cosechar, debemos considerar que la madurez del fruto de tomate de cáscara no coincide con la madurez de la semilla obteniéndose una mejor germinación al extraer la semilla 15 días después de ser cosechados los frutos (Orduña *et al.*, 1992) (Citado por Rios Caro).

La extracción manual de la semilla se efectúa con pequeñas cantidades de fruto o inexistencia de un equipo apropiado para realizar la separación. Para este método los frutos maduros son cortados ecuatorialmente mediante una navaja o triturados en forma rústica dentro de un costal, aplastando los frutos y el material gelatinoso que rodea a la semilla se exprime en recipientes,

durante este proceso se eliminan las paredes del fruto, la pulpa, la epidermis y demás restos, posteriormente las semillas son separadas del material gelatinoso por un lavado u otros métodos (Hernandez, 1990).

Ya obtenidas las semillas, separadas y lavadas deben ser secadas hasta que alcanzan un nivel óptimo de humedad cuidando no provocar daño en el poder germinativo. Si se almacenan semillas con un nivel alto de humedad y las condiciones de temperaturas son óptimas, es muy probable que germinen o pierdan su poder germinativo (Izquierdo *et al.*, 2011).

En la producción de semillas hortícolas al iniciar la fase de beneficio se deberá conocer el tipo de fruto botánico de la especie con que estamos trabajando, ésto definirá nuestro esquema de preacondicionamiento, que consiste en romper los frutos para en seguida extraer las semillas bajo procesos específicos, tanto los carnosos jugosos como los carnosos secos se someten a un despulpado y lavado de la semilla (Hernández, 1990).

### **Producción de semilla diploide contra tetraploide**

Las semillas provenientes de materiales tetraploides de tomate de cáscara son diferentes a las semillas provenientes de las variedades e híbridos diploides, las semillas tetraploides son más grandes y muchas veces son más resistentes a plagas y enfermedades. (Jiménez, 2006), los frutos tetraploides producen una menor cantidad de semilla, por que tienen una reducida fertilidad de polen (Ramsey & Schemske, 2002), sin embargo las semillas de los tetraploides son más gruesas que las semillas triploides, el espesor de la semilla es una característica que varía según el linaje del tetraploide y el diploide utilizados (Horovitz *et al.*, 1961), lo cual es un factor a considerar cuando analizamos el peso de semillas, pues el mayor grosor puede darnos un mayor peso aunque produzcan una cantidad baja de semillas por fruto. La baja producción en semillas también es explicado por un bajo valor relativo de todos los componentes determinantes del rendimiento (Bertin,



2004). En cambio en los diploides como se tiene una meiosis regular hay una mayor producción de semilla (Scott & Baldwin, 1994).

### **Calidad de semilla**

La calidad de la semilla es un concepto que involucra muchas variables que dependen en gran medida de las metodologías de producción, cosecha y almacenaje. La complejidad de esto involucra al menos aspectos relacionados con los atributos genéticos, sanitarios, fisiológicos y físicos (Peñaloza, 2001).

Conocer la calidad tanto física como fisiológica de la semilla es importante ya que nos facilitará predecir el rendimiento esperado del cultivo a primera instancia.

Según la ley de certificación y comercialización de semillas dada por el Servicio Nacional de Inspección y Certificación de testigo (SNICS), la calidad física es la medida de la pureza física de la semilla, se expresa como el porcentaje del peso que corresponde a la semilla de la especie, con respecto al peso total de la muestra de un determinado lote.

La pureza física como podemos ver es un indicador de la calidad en semillas. Se considera semilla pura a las semillas normales o intactas, las maduras, las de tamaño inferior al normal siempre que puedan ser identificadas como pertenecientes a la especie analizada.

En materia inerte se incluirán materiales tales como: piedras, partículas de suelo, granos de arena, tallos, pedazos de hoja, raíces, glumas, glumelas y otros fragmentos de plantas o de semillas de plantas silvestres o cultivadas que estén dentro de las siguientes condiciones:

a) Semillas de especies o variedades consideradas como de otras plantas, quebradas o dañadas, cuyos fragmentos sean iguales o inferiores a la mitad del tamaño original de la semilla.

b) Semillas que se encuentren enteramente desprovistas de su testa o tegumentos.

c) Aquellas semillas que han ido transformadas por los hongos en esclerocios, masas esporíferas de caries o agallas de nemátodos.

La calidad fisiológica es la medida de la capacidad de la semilla para producir material de propagación fisiológicamente viable, se expresa como el porcentaje de semilla fisiológicamente viable, con respecto al total de la muestra de un lote.

La capacidad de una planta para germinar y producir una planta normal, es el principal atributo para evaluar su calidad y potencia; es el criterio mas antiguo y mas ampliamente utilizado, otro factor a considerar es el vigor de la planta.

### **Tratamientos biológicos a semillas**

Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal han sido aplicadas en un amplio rango de cultivos incrementando la productividad de las plantas.

El uso de dichos inoculantes incorporados como tratamientos de semilla muestran un creciente interés no sólo en estudios de investigación sino también en evaluaciones extensivas y en usos comerciales en diferentes cultivos (Ferraris *et al.*, 2012); puesto que según Caballero Mellado (Citado por Fontanetto, 2010) surten efectos favorables sobre las plantas cultivadas como puede ser el estímulo o promoción de crecimiento propiamente dicho, una más rápida implantación, mayor crecimiento de raíces, que tiene como consecuencia que las plantas manifiesten menos limitaciones para su normal crecimiento aéreo y en consecuencia una mayor eficiencia de uso de la radiación incidente desencadenando así en un circuito favorable de crecimiento que sostiene una mejor implantación, crecimiento vegetativo y formación de granos (Diaz, 2008). Otro beneficio de los tratamientos biológicos es un aumento en la tolerancia a patógenos, fijación biológica no

simbiótica de nitrógeno y solubilización de nutrientes, es decir mejoran la germinación, emergencia y vigor de los materiales tratados (Acuña, 2011).

Estos productos se presentan en formulaciones en seco en forma de polvos, esporas secas y polvos de goma/talco. También existen muchas formulaciones líquidas para pulverizadores, baños, gel líquido para enterramiento y matriz sólida. Estos últimos pueden ser diseñados para aplicación a gran escala o para tratamientos en cajas plantadoras (Nyon, 2000).

### **Género *Bacillus spp.***

Los promotores del crecimiento vegetal tienen un gran potencial en la agricultura moderna, porque en la actualidad el cultivo de la mayoría de las hortalizas como tomate y pimiento requiere de la producción de plántulas vigorosas, factor importante para la producción del fruto (Martinez *et al.*, 2013). Entre estos promotores biológicos, el género *Bacillus sp.* Ocupa un lugar importante ya que se encuentra ampliamente distribuido en los más diversos hábitats entre ellos el suelo y regularmente asociadas a plantas. En este sentido, se han realizado estudios de promoción del crecimiento vegetal y control biológico de patógenos, buscando estrategias que permitan la disminución del uso de fertilizantes químicos (Rojas, 2011).

Según Clements y Doung (Citados por Suarez *et al.*, 2010), una alternativa para disminuir la contaminación por el uso de agroquímicos sintéticos en el manejo de enfermedades del suelo es el uso de antagonistas del género *Bacillus sp.*, ya que son considerados los más eficaces por sus propiedades de inhibición de fitopatógenos del suelo, así como en la promoción del crecimiento de las plantas e induciendo mayor rendimiento de cultivos como en el tratamiento y germinación de las semillas. Shipper (Citado

por Hernández 2008), indican que ciertas especies de *Bacillus sp.* promueven la síntesis de auxinas, citoquininas, vitaminas y etileno.

*B. subtilis* es usado como agente de control biológico mediante el tratamiento de semillas. Su efecto benéfico cuando se aplica junto a las semillas o en forma individual no se debe exclusivamente al antagonismo con los patógenos sino que influye positivamente en la germinación, desarrollo y rendimiento del cultivo debido a la producción de sustancias promotoras del crecimiento y al mejoramiento de la nutrición de las plantas (Fernández *et al.*, 2001).

## **MATERIALES Y METODOS**

### **Ubicación del sitio experimental**

El presente trabajo de investigación se realizó en las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, en el laboratorio de Producción de semillas del Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas durante el periodo del mes de junio 2014 al mes de noviembre del 2014. La Universidad se encuentra ubicada en Buenavista a 7 km de la ciudad de Saltillo, Coahuila. Está situada entre los 100° 50' 57" longitud Oeste y los 25°23'42" latitud Norte del meridiano de Greenwich. Se encuentra a una altitud de 1,742 msnm.

### **Material genético**

Se utilizó semillas del diploide Variedad Rendidora y de 13 genotipos tetraploides seleccionados en base a rendimiento y calidad de fruto; la semilla

del diploide rendidora variedad comercial y de los tetraploides inducido por colchicina (Robledo *et al.*, 2011), se obtuvieron de la evaluación y selección en campo en el 2014 en el municipio de General Cepeda en la zona sur del estado de Coahuila, coordenadas 25° 23' 00" longitud N y 101° 27' 00" longitud O del meridiano de Greenwich, a una altitud de 1,468 msnm.

## Manejo de poscosecha

### Cosecha

Se realizó al tiempo óptimo de madurez del fruto a los 90 días después siembra; donde el color del caliz es café y cosechando 4 a 6 frutos por planta, de 13 genotipos sobresalientes más el testigo (Var. Rendidora), se identificaron por genotipo (planta) con la clave correspondiente (Cuadro 3.1), además se envasaron en bolsas de polietileno como se muestra en la Foto 3.1.

**Cuadro 3.1 Identificación de los genotipos tetraploides y el testigo diploide producidos en General Cepeda Coahuila, 2014.**

Genotipos tetraploides	Clave de identificación
1	R-3/III-37/P-1
2	R-3/III-37/P-3
3	R-2/III-37/P-3
4	R-3/II-2/P-3
5	R-3/II-2/P-4
6	R-1/II-106/P-2
7	R-3/II-106/P-2
8	R-1/III-19/P-2
9	R-1/II-12/P-1
10	R-2/III-21/P-4
11	R-1/III-19/P-1
12	R-1/II-2/P-3
13	R-1/II-2/P-5
<b>Diploide</b>	
14	Variedad Rendidora



**Foto 3.1 Tipo de empaque e identificación en los materiales genéticos estudiados.**

### **Extracción de semilla**

Antes de proceder a la extracción, se seleccionaron tres frutos (tres repeticiones) de cada material genético para la evaluación de rendimiento de semilla; los frutos se cortaron por su diámetro ecuatorial, dejando visibles los lóculos y procediendo a extraer toda la pulpa de cada fruto raspando los bordes de este con ayuda de una cuchara (Foto 3.2); la pulpa extraída se colocó en un recipiente con agua dando lugar a la separación de placenta y semillas con mayor facilidad, con la ayuda de un colador se retiró la placenta flotante dejando en el fondo del recipiente la semilla.

Se extrajo la semilla del resto de los frutos de cada material, para después juntar la semilla de las 3 repeticiones evaluadas en rendimiento con su respectivo material de procedencia y pesar el contenido total de cada bolsa obteniendo así el rendimiento de semilla total.



**Foto 3.2 Pesado y extracción de la semilla por fruto.**

### **Secado de semilla**

Una vez extraída y lavada la semilla, se extendió y se dejó secar sobre papel filtro por 7 días a temperatura ambiente de laboratorio ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , con una HR de 38%). La semilla seca fue guardada en bolsas de plástico o polietileno por repetición en una bolsa diferente como se muestra en la siguiente Foto 3.3.



**Foto 3.3 Semilla identificada por material.**

### **Acondicionamiento**

Se realizó la limpieza de la semilla mediante separación por peso con la ayuda de un soplador marca “South Dakota”, introduciendo la semilla de cada material genético en la parte inferior del contenedor o tubo de acrílico (Foto 3.4.a), activando por un minuto a una abertura de 1.5 cm (Foto 3.4.b), separando la semilla llena que permaneció en la parte inferior de la columna del equipo, mientras que la semilla vana (materia inerte) en la parte superior de la columna. Al obtener la semilla vana y la semilla pura se guardaron por separado en bolsas de plástico previamente identificadas (Foto 3.4); se pesaron con la balanza analítica de 0.0001 g de precisión y se calculó el porcentaje en relación al peso total de la muestra de semilla de cada material.



**Foto 3.4 Partes del equipo South Dakota, soplador utilizado para el beneficio de la semilla, (a) tubo del soplador; (b) la abertura que se manejo fue de 1.5 cm; (c) la semilla pura permanecio en la parte inferior del tubo.**

### Tratamientos

Los tratamientos a base de productos biológicos aplicados a los materiales genéticos de tomate de cáscara fueron dos productos comerciales: Serenade (*Bacillus subtilis*) y Sonata (*Bacillus pumilus*) a las concentraciones de 25, 50 y 75 % (Cuadro 3.1), teniendo un testigo con agua.

**Cuadro 3.2 Tratamientos y concentraciones aplicados a la semilla de tetraploides y el diploide de tomate de cáscara.**

Tratamientos	Concentraciones (%)
Sonata	0
	25
	50
	75
Serenade	0
	25
	50
	75

Se realizó la dilución de cada producto en 200 ml de agua (Foto 3.5), utilizando la siguiente fórmula:  $C_1 V_1 = C_2 V_2$

$C_1$ : Concentración uno,  $C_2$ : Concentración dos,  $V_1$ : Volumen uno  $V_2$ : Volumen dos:





**Foto 3.5 Tratamientos aplicados a semillas en diferentes concentraciones.**

### **Variables Evaluadas**

#### **Rendimiento de semilla**

El rendimiento se determinó a través de Peso de Semilla por Fruto (PSF) y Número de semillas por Fruto (NSF).

#### **Peso de Semilla por Fruto (PSF)**

Se obtuvo el peso de la semilla seca de cada fruto cosechado y seleccionado en su respectiva repetición, con ayuda de una balanza analítica de 0.0001 g precisión, registrando el dato en gramos.

#### **Número de semillas por fruto (NSF)**

Se contaron todas las semillas secas de cada fruto repetición, anotando el número total de semillas por fruto.

#### **Calidad Física**

Una vez extraída y seca el total de las semillas de cada material genético, se determinaron las variables Peso Volumétrico antes (PVA) y después (PVD) del acondicionamiento generando dos valores relacionados con el llenado de la semilla; así como la pureza física determinando el porcentaje de Semilla Pura (SP) y materia inerte (Semilla Vana, SV).

### **Peso volumétrico**

Para determinar el peso volumétrico antes y después del acondicionamiento, se realizó mediante la técnica de volumen conocido, utilizando un recipiente de 1.6 ml de capacidad o volúmen, dejando caer libremente la semilla dentro del recipiente para cada material como se observa en la Foto 3.6, quitando el exceso de la semilla hasta dejar el contenido de la misma al ras del recipiente, una vez realizado este proceso se pesó el contenido de semilla en una balanza analítica de 0.0001 g de precisión, registrando el dato en gramos y se calculó el peso volumétrico con la siguiente fórmula:  $PV = \frac{kg}{hl}$ ; sabiendo que un 1 hl = 100 Litros y 1 Litro = 1000 ml.



**Foto 3.6 Recipiente utilizado para obtener el peso volumétrico.**

### **Pureza física (SP y SV)**

Se determinó a través de separación por peso con la ayuda de un soplador marca “South Dakota” con una abertura 1.5 cm, introduciendo la semilla de cada material genético en la parte inferior de contenedor o tubo de acrílico, activando por 1 minuto obteniendo la semilla pura y materia inerte, se pesaron con la balanza analítica de 0.0001 g de precisión y se calculó el porcentaje en relación al peso total de la muestra de semilla de cada material.

### **Calidad Fisiológica**

Determinada mediante las variables: Porcentaje de Viabilidad (PV), Capacidad de germinación a través de la germinación fisiológica (G) y los

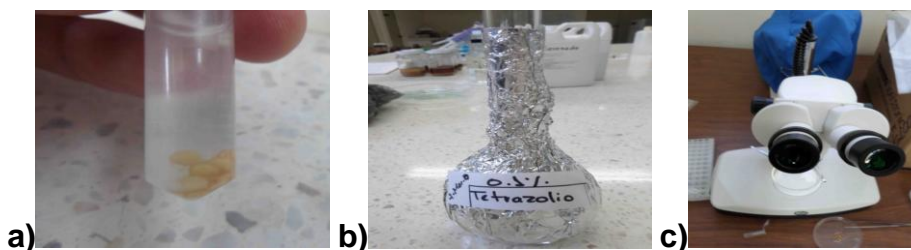
porcentajes de Plántulas Normales (PN), Plántulas Anormales (PA) y Semillas sin Germinar (SSG); así como el vigor dado por la Longitud media de Radícula (LMR), Longitud media de Hipocotilo (LMH) y Peso Seco de plántula (PS).

### **Porcentaje de viabilidad (PV)**

Se utilizaron 3 repeticiones de 50 semillas por material, colocandolas en un tubo ependorf por cada repetición, se aplicó agua a cada repetición con el fin de acondicionar la semilla (Foto 3.7.a) por 10 horas una vez blanda la testa, se procedió a realizar un corte transversal a cada semilla por repetición.

Terminados los cortes se aplicó una solución de 3,5,7 Trifenil Cloruro de Tetrazolio al 0.1% (Foto 3.7.b) por repetición hasta cubrir la semilla, se cubrió con papel aluminio y se llevaron los tubos a dentro de una estufa a 35°C por 90 minutos.

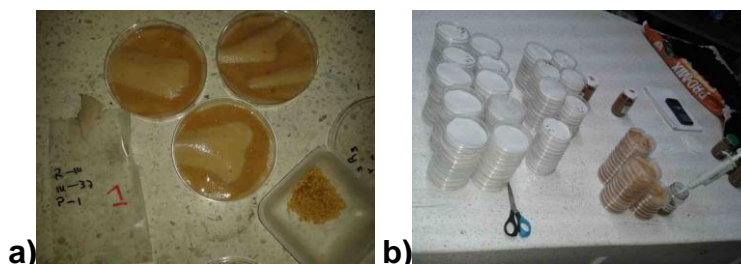
Al pasar el tiempo correspondiente, se observó la semilla a través de un estereoscopio (Foto 3.7.c) y se separó la semilla viable de la no viable, diferenciando en la tinción de las estructuras, cotiledones teñidos de rojo (semilla viable) y sin teñir (semilla no viable). Se calculó el porcentaje de semillas viables y no viables de cada material.



**Foto 3.7 Material utilizado para realizar la prueba de viabilidad por tetrazolio: pellet con la semilla remojada en su interior (a), recipiente contenedor del tetrazolio (b) y estereoscopio (c).**

### **Capacidad de germinación fisiológica (G, PN, PA, SSG)**

Se prepararon caja petri con 4 mL de cada tratamiento y concentración por material genético, teniendo 3 repeticiones de cada material para cada concentración y producto más una concentración más de 0 % como testigo con agua para cada tratamiento y materila genético (Foto 3.8).



**Foto 3.8 Cajas petri sembradas (a) e inoculación de las cajas petri con la ayuda de una micropipeta colocando 4 ml de dilución por caja (b).**

Se sembraron 50 semillas por repetición, tratamiento concentración de cada material genético, y se llevaron a una cámara de germinación a  $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  13 días con 8 horas luz y 16 oscuridad manteniendo la humedad; a los 13 días después de la siembra, se realizaron las evaluaciones de Germinación (G, número de germinaciones fisiológicas), número de plántulas normales (PN), plántulas anormales (PA) y semillas sin germinar (SSG); según el manual de evaluación de plántulas de la AOSA (1992); y posteriormente se calculó el porcentaje de estas variables para su respectivo análisis estadístico.

### **Vigor (LMR y LMH)**

De las plántulas normales resultantes de la prueba de capacidad de germinación , se midieron su longitud de hipocotilo y longitud de radícula, utilizando una regla metálica de 30 cm (Foto 3.9)



**Foto 3.9 Se midió cada plántula normal con una regla de 30 cm.**

### **Peso seco de plántula (PS)**

Las PN se colocaron en bolsas de papel identificadas con el número de repetición, el material al que pertenecía y la concentración correspondiente en el caso de la semilla tratada.

Las bolsas se colocaron en una estufa a 65° C por 24 horas. Después se peso cada bolsa en una balanza analítica de 0.0001 g de precisión para obtener el peso seco de cada material.

### **Diseño experimental**

Se utilizo un diseño experimental de bloques completamente al azar para las variables de rendimiento de semilla (PSF y NSF) y calidad física (PVA, PVD, SP y SV); así como bloques completamente al azar con arreglo factorial. El experimento constó de 14 bloques, cada bloque con dos productos biológicos a base de bacterias. Cada producto fue de tres concentraciones con tres repeticiones por genotipo, considerando el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + (\alpha\beta)_{ij} + (\alpha\gamma)_{ik} + (\beta\gamma)_{jk} + (\alpha\beta\gamma)_{ijk} + E_{ijkl}$$

Donde:

$Y_{ijkl}$  = Variable de respuesta

$\mu$  = Efecto de la media general.

$\alpha_i$  = Efecto verdadero del i-ésimo genotipo.

$\beta_j$  = Efecto verdadero del j-ésimo producto biológico comercial.

$\gamma_k$  = Efecto verdadero del k-ésima concentración

$\alpha\beta_{ij}$ =Efecto verdadero de la interacción del i-ésimo genotipo y el j-ésimo producto biológico.

$\alpha\gamma_{ik}$ =Efecto verdadero de la interacción del i-ésimo genotipo y el k-ésima concentración.

$\alpha\beta\gamma_{ijk}$ =Efecto verdadero de la interacción del i-ésimo genotipo, del j-ésimo producto biológico y el k-ésima concentración.

$E_{ijkl}$ = Error experimental en la ijk-ésima unidad experimental.

### **Análisis estadístico**

El análisis estadístico de cada variable medida se llevo a cabo con el paquete STATISTICA 6 con un nivel de confianza de 95-99 %, con un ANOVA y una prueba de comparación de medias con Tukey 0.05 para los tratamientos con diferencias significativas.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Rendimiento de semillas**

En el análisis de varianza resultante en las variables para calidad física, se encontró que existe una diferencia altamente significativa entre los genotipos evaluados en las variables NSF y PSF, lo cual indica que en al menos uno de los genotipos se comporto diferente, se encontró diferencias significativas en el número y peso de semillas por fruto entre los mismos genotipos con CV de 29.5 y 24.7 % respectivamente (Cuadro 4.1).

**Cuadro 4.1 Análisis de varianza en el rendimiento de 14 genotipos de tomate de cáscara.**

Fuentes de variación	Grados de libertad	Número de semillas por fruto	Peso de semillas por fruto (g)
<b>Genotipo</b>	13	8065.71*	0.022*
<b>Error Experimental</b>	28	1816.54	0.006
<b>Coefficiente de Variación (%)</b>		29.5	24.7

- = Significativo a una probabilidad de 0.01%.

Según el Cuadro 4.2 en la prueba de comparación de medias para NSF, se obtuvieron tres grupos estadísticos diferentes, de los cuales sobresale el g14 que es la variedad comercial Rendidora (testigo), estando todos los tetraploides en valores más bajos, reflejando que los materiales poliploides obtenidos carecen de rendimiento significativo en la producción de semilla. Los factores que afectan a esta producción en dichos materiales están relacionados con la polinización (Raigón 2010), dado que si ésta fue deficiente dará una producción menor de semillas, también según Nakamura (Citado por Robledo *et al.*, 2012) la fertilidad del polen en tetraploides es baja y los granos de polen son más grandes y pesados, lo que disminuye su capacidad como buen productor de semilla. El material con menor número de semillas en promedio fue el g2 con 91.67 semillas/fruto.

En el caso de la variable PSF, reflejó esta misma respuesta, donde también se mostró la capacidad de producción de Rendidora, que en la comparación de medias para esta variable se obtuvieron cuatro grupos estadísticos sobresaliendo nuevamente el testigo (g14), este comportamiento de comparación entre diploides y poliploides demuestra lo descrito por Bertin (2004), donde menciona que el mayor PSF en la producción de semillas es mejor en diploides que en los materiales poliploides, dado en los g2, g4, g6, g8, g11, y g13 (Cuadro 4.2).

**Cuadro 4.2 Resultados de la prueba de comparación de medias en el rendimiento de 14 genotipos de tomate de cáscara en condiciones de laboratorio.**

<b>Genotipos (g)</b>	<b>Número de semillas por fruto</b>	<b>Peso de semillas por fruto (g)</b>
1	124.33 bc	0.33467 bc
2	91.67 c	0.22467 cd
3	132.00 bc	0.34183 bc
4	101.33 bc	0.21520 cd
5	167.33 b	0.38947 b
6	148.33 bc	0.31117 bcd
7	164.00 b	0.36047 b
8	116.00 bc	0.30717 bcd
9	138.00 bc	0.32120 bc
10	158.00 bc	0.36137 b
11	106.33 bc	0.18347 d
12	140.00 bc	0.34017 bc
13	126.33 bc	0.29057 bcd
14	305.67 a	0.54423 a

\*Literales igual son del mismo grupo estadístico.

### **Calidad física**

El análisis de varianza para las variables de calidad física, muestra que hubo una diferencia altamente significativa entre los genotipos evaluados, por lo menos uno de los genotipos resultó sobresaliente en SP, teniendo un porcentaje en el coeficiente de variación (CV) de 5.7 %; en la variable materia inerte fue de 68 % CV, lo cual refleja que al menos uno de los genotipos estudiados tuvo un mejor llenado en la semilla y otros se encontró semilla vana (materia inerte); en la variable peso volumétrico, el CV antes del beneficio (PVA) fue de 5.1 % y después del beneficio (PVD) fue de 2.4 %, ambas variables demuestran que los efectos de la polinización de los genotipos fue diferente (Cuadro 4.3).

**Cuadro 4.3 Análisis de varianza en la calidad física de 14 genotipos de tomate de cáscara en condiciones de laboratorio.**



<b>Fuentes de variación</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Semilla pura</b>	<b>Materia Inerte</b>	<b>Peso volumétrico antes</b>	<b>Peso volumétrico después</b>
<b>Genotipo</b>	13	362.90**	362.90**	23.99**	10.04**
<b>Error Exp.</b>	28	0.00	0.00	3.61	0.98
<b>Cv</b>		5.71	4.68	5.11	2.43

\* = Significativo a una probabilidad de 0.01%.

\*\* = Altamente significativo a una probabilidad de 0.01%.

En la prueba de comparación de medias que se muestra en el Cuadro 4.4; Se puede observar que en la variable SP se formaron 14 grupos estadísticos diferentes, siendo los tres genotipos más sobresalientes g2, g9 y g13 presentando un mayor porcentaje de semilla pura; mientras que el testigo (g14) se encontró en un lugar intermedio, demostrando que a pesar de ser un material diploide con meiosis regular y por ende mejor productor de semilla (Robledo *et al.*, 2012), en comparación con los tetraploides, tiene una considerable cantidad de semilla vana o materia inerte.

Los genotipos más sobresalientes en SP son los de más bajo porcentaje de MI, siendo estas dos variables inversamente proporcionales, ya que los genotipos con menor porcentaje de SP fueron g1, g6 y g12 y resultaron con mayor valor en MI.

**Cuadro 4.4 Resultados de la prueba de comparación de medias en la calidad física de 14 genotipos de tomate de cáscara en condiciones de laboratorio.**

<b>Genotipo (g)</b>	<b>Semilla pura (%)</b>	<b>Materia inerte (%)</b>	<b>Peso volumétrico antes (Kg/HL)</b>	<b>Peso volumétrico después (Kg/HL)</b>
1	57.6 n	42.386 a	38.417 bcd	40.312 de
2	95.9 c	4.045 l	39.490 cd	40.208 ef
3	93.8 f	6.245 i	34.510 e	39.229 efg
4	91.8 i	8.194 f	34.858 e	41.916 cd
5	91.7 j	8.327 e	35.142 e	40.291 de
6	72.8 m	27.245 b	35.787 de	39.958 ef
7	94.2 d	5.771 k	39.715 b	42.229 bc
8	88.9 k	11.093 d	36.310 cde	40.708 cde
9	97.6 a	2.452 n	36.462 cde	40.395 de
10	93.9 e	6.054 j	36.119 de	40.541 de

<b>11</b>	92.3	h	7.681	g	34.254	e	38.208	g
<b>12</b>	86.1	l	13.863	c	34.752	e	38.583	fg
<b>13</b>	97.5	b	2.464	m	41.312	ab	43.812	ab
<b>14</b>	93.6	g	6.431	h	43.356	a	44.708	a

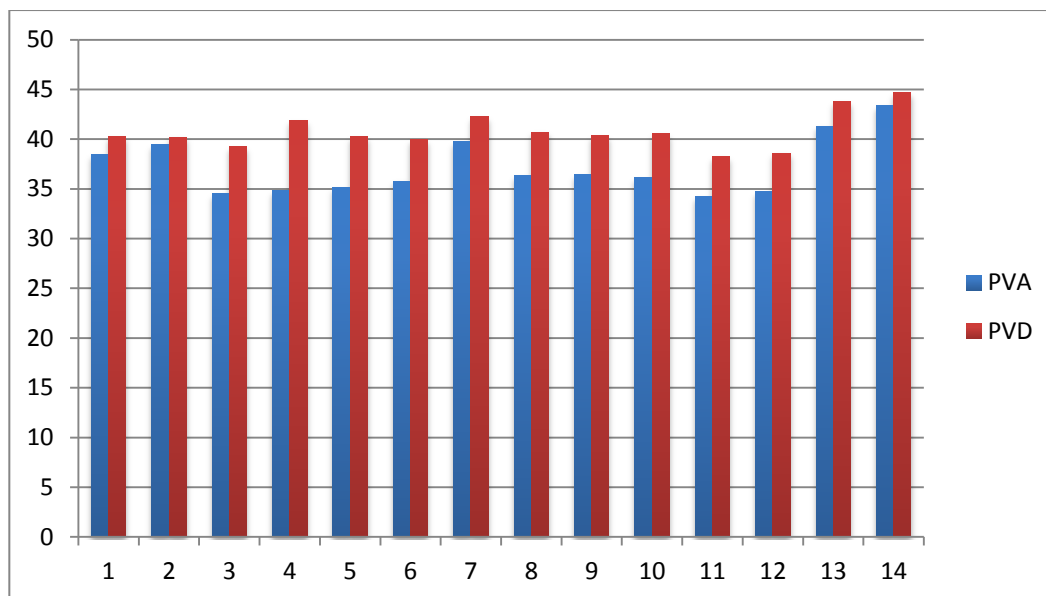
\*Literales igual son del mismo grupo estadístico.

En la variable PVA, se obtuvieron cinco grupos estadísticos diferentes en la prueba de comparación de medias, siendo los genotipos más sobresalientes g13 y g14 con una media de 43.4 y 41.3 kg/hl respectivamente, se puede observar que el testigo (g14) presenta un alto PVA verificando su mayor PSF, es decir, que es el mejor productor de semilla debido a su característica diploide, un genotipo que no ha sido modificado en su número cromosómico conserva buenas características en cuanto a producción de semilla, dicha característica se reduce al ser un genotipo poliploide pues presentan una reducida fertilidad del polen y tienen menor producción de semilla (Ramsey & Schemske 2002).

Mientras que los genotipos con menor peso volumétrico antes del beneficio en el grupo dos fueron g7, g12 y g1 teniendo 39,7 39,4 37,4 Kg/HL respectivamente; sin embargo, los genotipos con menor peso volumétrico aún fueron la mayoría de los estudiados siendo los de menor peso volumétrico los g12, g3 y g11 que pertenecen a tetraploides al igual que los de rangos intermedios lo que indica nuevamente que los materiales tetraploides no son buenos productores de semilla.

Se puede observar que después del beneficio permanecieron los mismos dos genotipos como superiores, el g13 y g14 con 44,7 y 43,8Kg/HL respectivamente, los materiales g7 y g4 se encuentran en tercer y cuarto lugar en dicho valor PVD.

En la prueba de comparación, se formaron siete grupos estadísticos en los cuales el g3, g12 y g11 fueron los que tuvieron menor peso volumétrico, a pesar de haber homogeneizado la semilla a través del soplador, los materiales tetraploides fueron inferiores al material comercial.



**Figura 4.1** Respuesta del peso volumétrico antes y después del acondicionamiento en semilla de tomate de cáscara de 14 genotipos expresado en kg/hl.

### Calidad fisiológica

En el ANVA de las variables de calidad fisiológica, en la variable viabilidad, se encontró una diferencia altamente significativa con un CV de 1.1 %, indicando que al menos un genotipo resulto distinto al resto (Cuadro 4.5).

**Cuadro 4.5** Análisis de varianza y comparación de medias en la viabilidad de 14 genotipos de tomate de cáscara en condiciones de laboratorio.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Porcentaje de viabilidad
Genotipo	13	500.43**
Error Exp.	28	0.85
Cv		1.10

Comparación de medias	
Genotipo (g)	Viabilidad (%)
1	74.666 e
2	68.666 f
3	73.333 e
4	64.666 g
5	66.000 g
6	91.333 bc
7	86.000 d
8	92.000 b
9	99.000 a
10	99.666 a
11	91.666 bc
12	99.666 a
13	90.333 c
14	74.000 e

\*\* = Altamente significativo a una probabilidad de 0.01%. \*Literales igual son del mismo grupo estadístico.

Como se puede observar en la prueba de comparación de medias (Cuadro 4.5), en la determinación de viabilidad con Tetrazolio se formaron siete grupos estadísticos diferentes en los 14 genotipos, dando el porcentaje de semillas vivas y semillas muertas en cada material, siendo g10, g12 y g9 quienes presentaron mayor porcentaje de viabilidad (99.66, 99.66 y 99 % respectivamente), esta condición es de suma importancia, permite conocer el estado fisiológico en el que se encuentra la semilla, así mismo el genotipo diploide Rendidora (g14) a pesar de haber sido el mejor en cuanto a la producción de semilla, presentó un bajo porcentaje de semilla viable colocándose en el antepenúltimo grupo con 74 %, seguidos los g5 y g4 con 66 y 64.66 % quienes obtuvieron los más bajos valores de viabilidad, donde Rendidora se encontró en un nivel intermedio de viabilidad siendo mejor que otros genotipos con características poliploides.

En la variable Germinación fisiológica (G), el análisis de varianza resultante mostró que los 14 genotipos presentaron diferencias altamente significativas, en las fuentes de variación genotipos, tratamientos y concentraciones, así como en las interacciones genotipo por concentración y

la interacción de las tres fuentes, mientras que en la interacción genotipo por tratamiento y tratamiento por concentración fue significativa, todo ello indica que al menos un genotipo sobresalió en un tratamiento y en una concentración teniendo un CV de 38.8 %.

En cuanto la variable Plántulas Normales (PN), cuyo CV es de 98.4 %, se obtuvo alta significancia en las fuentes de variación genotipo, tratamiento y concentración, así como en la interacción de las tres fuentes y genotipo por concentración reflejando que existe al menos un material genético en cada valor que sobresalió con un tratamiento y a una concentración determinada, en cuanto a las interacciones genotipo por tratamiento y tratamiento por concentración hubo diferencias significativas.

Para el caso de Plántulas Anormales (PA), se obtuvo en el ANVA un CV de 74.8 %, donde en las fuentes de variación genotipo y concentración resultaron valores altamente significativos al igual que para la interacción genotipo por concentración, esto señala que al menos un genotipo tuvo respuesta a alguna de las concentraciones aplicadas.

Para la variable Semilla Sin Germinar hubo alta significancia en las fuentes genotipo, tratamiento y concentración, así como para cada una de sus interacciones, excepto tratamiento por concentración donde se obtuvo diferencia significativa, con un CV de 25.6 % (Cuadro 4.6).

**Cuadro 4.6 Análisis de varianza en la capacidad de germinación de 14 genotipos de tomate de cáscara, tratada con dos productos comerciales (Sonata y Serenade) a cuatro concentraciones bajo laboratorio.**

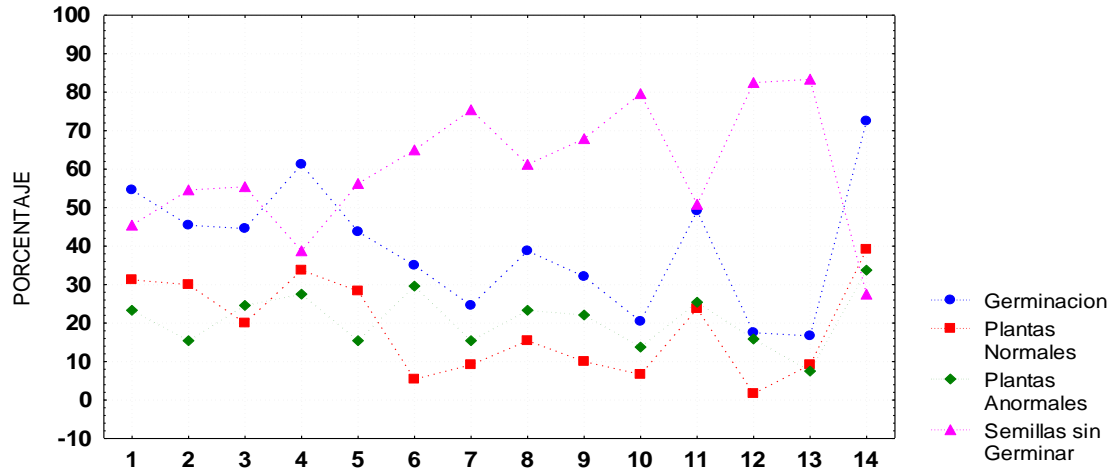
Fuentes de variación	Grados de libertad	Germinación fisiológica (%)	Plántulas normales (%)	Plántulas anormales (%)	Semilla sin germinar (%)
<b>Genotipo</b>	13	6699.7**	3562.9**	1251.3**	6699.7**
<b>Tratamiento</b>	1	5750.2**	5424.1**	7.4404*	5750.2**
<b>Concentración</b>	3	46332.0**	10206.6**	30144.7**	46332.0**
<b>Gen X Trat</b>	13	332.3*	692.0*	257.4*	332.3*
<b>Gen X Conc</b>	39	798.2**	1163.9**	840.04**	798.2**
<b>Trat X Conc</b>	3	656.6*	1046.3*	523.3*	656.6*
<b>G X T X C</b>	39	545.5**	304.8*	386.9*	545.5**
<b>Error exp.</b>	224	238.0	344.0	245.2	238.0

<b>CV (%)</b>	38.8	98.4	74.8	25.6
---------------	------	------	------	------

\*= Significativo a una probabilidad de 0.01%; \*\* = Altamente significativo a una probabilidad de 0.01%.

Para poder identificar a los materiales con mejor comportamiento de cada variable se obtuvo la prueba de comparación de medias (Cuadro 4.7); donde en G, todos los materiales genéticos estudiados presentaron baja germinación fisiológica, debido tal vez a diferentes factores tanto bióticos como abióticos, dado que todos los materiales presentaron un buen PV; sin embargo, es necesario mencionar que el decremento en la germinación mostrado en la prueba de comparación de medias, se debe en gran medida a los tratamientos y a las concentraciones aplicadas que pudieron causar toxicidad en la semilla, donde el testigo (g14) tuvo una clara respuesta ante el resto de los genotipos (Figura 4.2), colocándose en el primer lugar de los nueve grupos estadísticos resultantes con una media de 72.5 %, en segundo lugar fue g4 y g1 con un 61.25 y 54.5 % respectivamente, encontrando una germinación inferior a 50 % en el resto, siendo los de más bajo nivel g7, g10, g12, g13 con rango de 24.5 a 16.6, resaltando el g13 como más bajo.

Este mismo comportamiento se observó en la variable de PN, donde nuevamente el testigo fue el genotipo con mayor respuesta con 39.1 %, sin embargo en este grupo estadístico se encuentran también los genotipos g1, g2 y g4, tetraploides que mostraron ser superiores a los demás genotipos tetraploides (Cuadro 4.7), siendo todos ellos de un nivel de calidad fisiológica baja para la comercialización de semilla, tal vez el efecto de los tratamientos afecta la germinación de la semilla ya que todos los materiales genéticos mostraron una tendencia negativa en la prueba, indicando que la calidad de estos no es la deseada para un sistema de producción de semillas.



**Figura 4.2** Respuesta de la capacidad de germinación de 14 genotipos de tomate de cáscara tratada con dos productos biológicos en condiciones de laboratorio.

**Cuadro 4.7** Resultados de la prueba de comparación de medias en la capacidad de germinación de 14 genotipos de tomate de cáscara realizadas bajo laboratorio.

Geno. (g)	Germinación Fisiológica (%)	Plántulas normales (%)	Plántulas anormales (%)	Semilla Sin Germinar (%)
1	54.5 bc	31.2 ab	23.3 bcd	45.4 gh
2	45.4 de	30 abc	15.4 def	54.5 ef
3	44.5 de	20 cde	24.5 bc	55.4 ef
4	61.2 b	33.7 ab	27.5 ab	38.7 h
5	43.7 def	28.3 bc	15.4 def	56.2 def
6	35 fg	5.4 fg	29.58 ab	65 cd
7	24.5 hi	9.1 fg	15.4 def	75.4 ab
8	38.7 efg	15.4 def	23.3 bcd	61.2 cde
9	32.0 gh	10 efg	22 bcde	67.9 bc
10	20.4 i	6.6 fg	13.7 ef	79.5 a
11	54.5 cd	23.7 bcd	25.4 ab	50.8 fg
12	17.5 i	1.6 g	15.8 cdef	82.5 a
13	16.6 i	9.1 fg	7.5 f	83.3 a
14	72.5 a	39.1 a	33.75 a	27.5 i

\*Literales igual son del mismo grupo estadístico.

En cuanto a PA, el g13 fue el material genético con menor número de anomalías con 7.5 % seguido del g10, g7, g5 y g2 que se encontró en un rango de 13 a 15.5 %, el material genético diploide (g14) fue quien presentó mayor número de plántulas anormales (Cuadro 4.7)

Con respecto al porcentaje de SSG en la respuesta general, se obtuvo que el material genético sobresaliente fue g14 seguido de g1 y g4, mostrando menor cantidad de semillas sin germinar; cabe mencionar que los genotipos con menos germinación son g13, g12 y g10, de los cuales se puede decir que fueron los materiales con mayor intoxicación causada por los tratamientos biológicos aplicados.

La aplicación de tratamientos biológicos a los materiales genéticos estudiados, resultó con un efecto negativo en la calidad fisiológica, encontrando que en la G, el tratamiento Sonata (*B. pumilus*) mostró una respuesta general en los genotipos de 43.8 % comparado con Serenade (*B. subtilis*) quien ocupó el segundo lugar con 35.5 %, existiendo una mejor germinación fisiológicas de los diferentes genotipos con la bacteria *B. Pumilus*, como consecuencia reflejó un mayor número de PN obteniendo un 22.8 % comparado con un 14.8 % alcanzado con el tratamiento Sonata.

Se puede observar en el Cuadro 4.8, que el tratamiento que demostró mayor nivel de toxicidad en las semillas fue Serenade con un 64.4 % de SSG en comparación con Sonata con 56.1 % de SSG.

**Cuadro 4.8 Resultados de la prueba de comparación de medias en la capacidad de germinación de semillas tomate de cáscara tratadas productos biológicos comerciales.**

Tratat.	Germinación Fisiológica (%)	Plóntulas Normales (%)	Plántulas Anormales (%)	Semilla Sin Germinar (%)
<b>Sonata</b>	43.8 a	22.8 a	21.0 a	56.1 b
<b>Serenade</b>	35.5 b	14.8 b	20.7 a	64.4 a

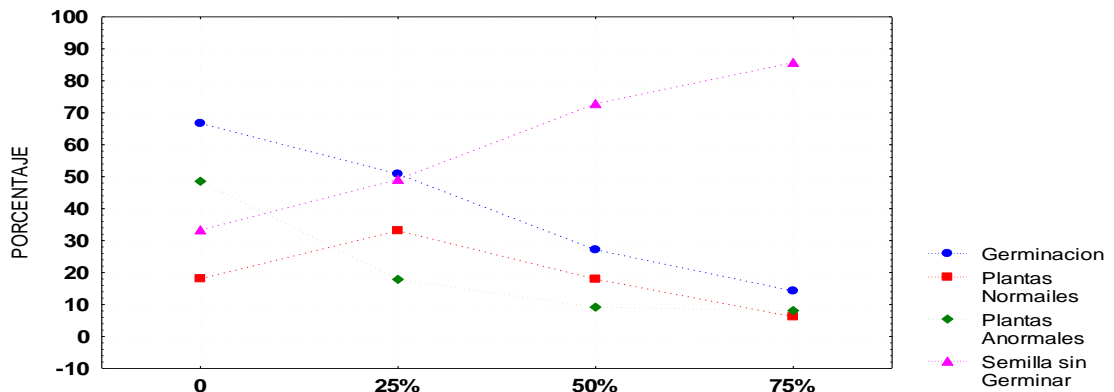
\*Literales igual son del msmo grupo estadístico.

En cuanto a las concentraciones utilizadas en el experimento, como se muestra en la Figura 4.3 a través de la prueba de comparación de medias, en forma general, los genotipos no presentaron alguna respuesta positiva bajo ninguna de las concentraciones aplicadas, más bien hubo una tendencia negativa en las variables G, PN y PA, donde se reflejó que fueron afectadas directamente por los tratamientos, posiblemente muestran ser toxicos a dichas



concentraciones, por la tendencia creciente de SSG; por ejemplo en una concentración a 0% (testigo con agua) resultó superior a las demás concentraciones aplicadas con un 66.6 % de G fisiológica, en comparación con las concentraciones 50 y 75 % de producto comercial, las cuales resultaron ser tóxicas para las semillas con un porcentaje de SSG de 72.8 y 85.7 % respectivamente (Cuadro 4.9).

Con respecto a la concentración de 25 % de los tratamientos con producto comercial propició un aumento significativo en la formación de PN con un 33.09 % (Figura 4.3), siendo interesante mencionar que el porcentaje de PN generadas por las concentraciones de 0 y 50 % son semejantes, reflejando que al utilizar uno de los productos biológicos estudiados a 50%, posiblemente obtendremos una cantidad de PN casi igual que al no aplicáramos ningún tratamiento; por tal motivo a una concentración de 75 % hay un mayor porcentaje de toxicidad teniendo porcentajes de PN bajos.



**Figura 4.3** Respuesta de la capacidad de germinación de semilla de 14 genotipos de tomate de cáscara tratados con dos productos biológicos comerciales en diferentes concentraciones en laboratorio.

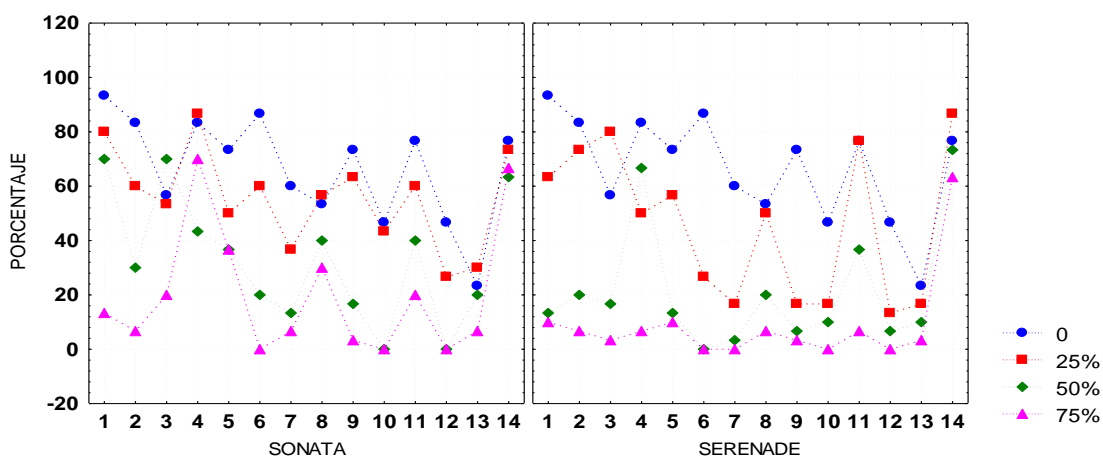
**Cuadro 4.9** Resultados de la prueba de comparación de medias en la calidad fisiologica en semillas de 14 genotipos de tomate de cáscara tratados con cuatro concentraciones.

Conc. (%)	Germinación Fisiológica (%)	Plántulas normales (%)	Plántulas anormales (%)	Semilla sin germinar (%)
0	66.6 a	18 b	48.5 a	33.3 d
25	50.8 b	33 a	17.7 b	49.1 c
50	27.1 c	17.9 b	9.1 c	72.8 b
75	14.2 d	6.1 c	8 c	85.7 a

\*Literales igual son del mismo grupo estadístico.

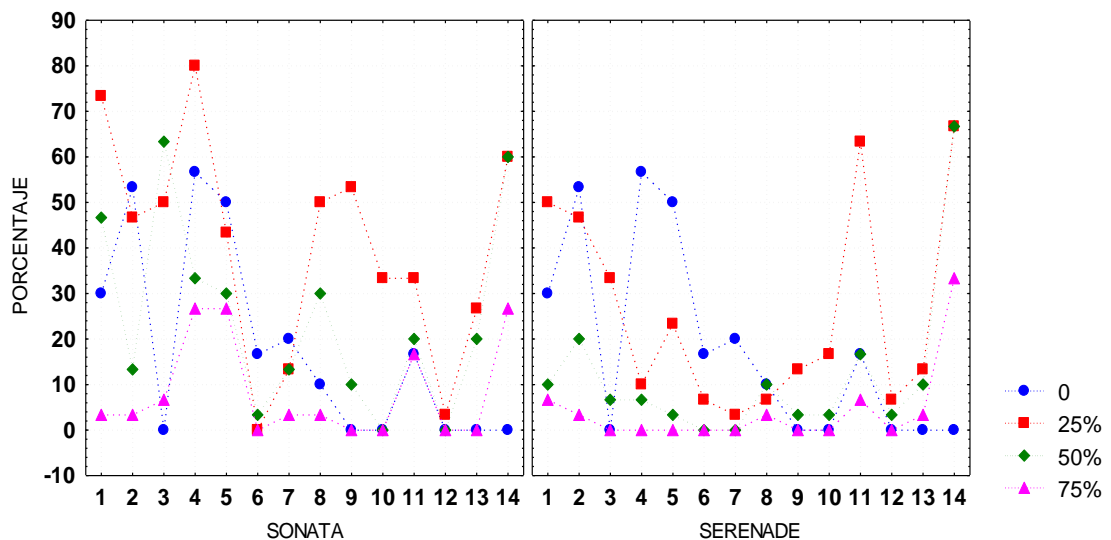
### Interacción genotipos por tratamientos y concentraciones

Como se muestra en la Figura 4.4, los materiales genéticos mostraron una mejor respuesta germinativa con el tratamiento Sonata a 25 % de concentración sobresaliendo g4, g1 y g14; mientras que para el tratamiento Serena a la misma concentración se encontraron a g14, g3, g2 y g11 con una germinación superior al 65 % en orden descendente. El resto de materiales tuvieron una germinación menor a dicho porcentaje afectados directamente por las concentraciones más altas; cabe mencionar que g14 fue el genotipo con mejor respuesta en ambos tratamientos seguido de g4, donde respondió mejor con Sonata, pues tuvieron una germinación mayor a 60% con ambos tratamientos con la dosis más alta que fue de 75% de producto biológico comercial.



**Figura 4.4** Respuesta de la interacción de genotipos, tratamientos y concentraciones en la germinación fisiológica (G) bajo condiciones de laboratorio.

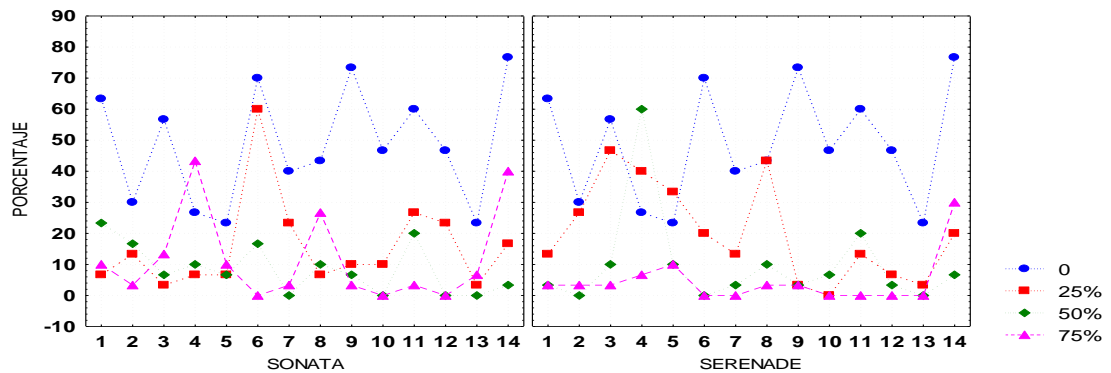
En cuanto a la variable PN, en la Figura 4.5 sobresalió la concentración a 25 % del resto, donde g4 y g1 tuvieron mejor respuesta en el porcentaje con el tratamiento Sonata que los demás con 70 % de PN, seguido de g14 quien se encontró en el rango de 60 y 70 %, resultando uno de los materiales genéticos con mejor respuesta. Con respecto al tratamiento Serenade, g14 y g11 fueron los más sobresalientes con rango de 60 y 70 %, lo cual no se descarta que también pueda ser tratamiento alternativo para la producción de plántulas normales; mientras que en las concentraciones restantes la respuesta PN no fue mayor a 50 %.



**Figura 4.5 Respuesta de la interacción de genotipos, tratamientos y concentraciones en Plántulas Normales (PN) bajo condiciones de laboratorio.**

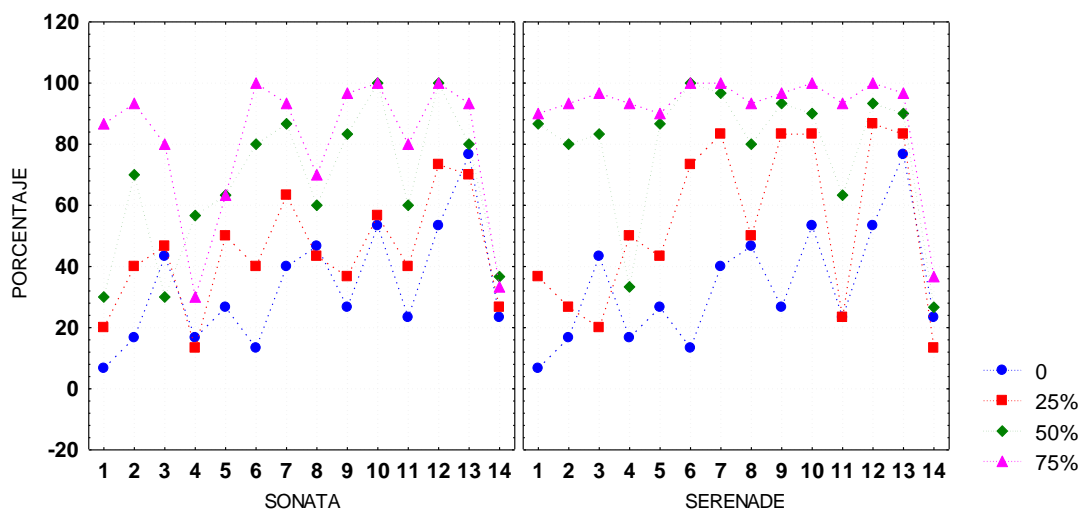
Se puede observar en la Figura 4.6, que a una concentración de 0 % (testigo con agua) de los tratamientos, se tuvo un crecimiento de tipo anormal por arriba del 20 %, llegando a un 80 % en el caso de g14, pero al aplicar alguno de los tratamientos biológicos este porcentaje se redujó drasticamente en todos los genotipos llegando hasta menos del 10 %; sin embargo hay genotipos que presentaron un elevado porcentaje de anomalías, aún

siendo tratados como fue g6, que tratado con Sonata al 25% presentó hasta un 60% de PA.



**Figura 4.6** Respuesta de la interacción de genotipos, tratamientos y concentraciones en Plántulas Anormales (PA) bajo condiciones de laboratorio.

La Figura 4.7 describe la respuesta de SSG, mostrando que la concentración a 75% provocó mayor muerte en las semillas, seguida de 50 % en ambos tratamientos, donde Serenade resultó ser el tratamiento con efecto más negativo. Sin embargo a la cocentración de 75 %, los materiales genéticos sobresaliente por contener menor porcentaje de SSG fueron g4 y g14 tratados con Sonata, logrado detectar que una vez más el diploide (g14) con Serenade, fue el que presentó menor porcentaje.



**Figura 4.7** Respuesta de la interacción de genotipos, tratamientos y concentraciones en semillas Sin Germinar (SSG) bajo condiciones de laboratorio.

### Vigor (Longitud media de Radícula LMR y Longitud media de Hipocotilo LMH)

En el análisis de varianza para la variable LMR, muestra que existen diferencias altamente significativas en las fuentes de variación genotipo, tratamiento y concentración, al igual que la interacción genotipo por concentración, con un CV de 104.4 % (Cuadro 4.10), lo que indica que al menos uno de los genotipos respondió a los tratamientos y concentraciones aplicados; mientras que en la interacción de las tres fuentes de variación, así como genotipo por tratamiento y tratamiento por concentración resultaron con diferencias significativas.

En cuanto a la variable LMH, resultó con un CV de 80.5 %, donde también se obtuvo alta diferencia significativa en las mismas fuentes de variación que la variable anterior, así mismo una diferencia significativa en la interacción de las tres fuentes de variación, genotipo por tratamiento y tratamiento por concentración. En la variable Peso Seco, se tuvo un CV de 189 % con diferencias significativas en cada una de las fuentes de variación (Cuadro 4.10).

**Cuadro 4.10 Análisis de varianza del vigor en 14 genotipos de tomate de cáscara tratados con productos comerciales (Sonata y Serenade) en diferentes concentraciones.**

Fuente de variación	Grados de libertad	Longitud media de radícula (cm)	longitud media de hipocotilo (cm)	Peso seco (mg)
<b>Genotipo</b>	13	6.305**	5.653**	1.13*
<b>Tratamiento</b>	1	32.128**	18.204**	0.16*
<b>Concentración</b>	3	42.642**	16.028**	3.16*
<b>Gen X Trat</b>	13	3.141*	1.615*	0.75*
<b>Gen X Conc</b>	39	4.493**	2.010**	0.49*
<b>Trat X Conc</b>	3	6.084*	2.596*	0.24*
<b>G X T X C</b>	39	2.434*	0.722*	0.56*
<b>Error exp.</b>	224	1.704	0.687	0.45
<b>CV</b>		104.4	80.5	189

• = Significativo a una probabilidad de 0.01%.

\*\* = Altamente significativo a una probabilidad de 0.01%.

En la prueba de comparación de medias resultante en LMR, resultaron seis grupos estadísticos diferentes, donde sobresale el material genético Rendidora (g14) con un promedio de 2.00 cm, en segundo y tercer lugar se encontraron g11 y g5 (1.88 y 1.83 cm), seguido del genotipo con menor longitud de radícula g12 con un promedio de 0.52 cm; mientras que en la variable de LMH, también se encontraron seis grupos estadísticos, donde el testigo fue desplazado a un segundo lugar (1.58 cm) por el tetraploide g5 con 2.17 cm en promedio, así mismo se obtuvieron tres materiales genéticos con menor longitud g10, g6 y g12 con 0.56, 0.56 y 0.41 cm respectivamente. Para la variable PS, en la prueba de comparación resultó que Rendidora sobresalió una vez más colocándose en el primer lugar con un promedio de 24.7 mg/plántula, en el segundo y tercer lugar lo ocuparon los tetraploides g8 y g4 con 20.4 y 16.8 mg/plántula. Los materiales con menor PS son el g6 y g12 (Cuadro 4.11).

**Cuadro 4.11 Resultados de la prueba de comparación de medias en la calidad fisiológica mediante el vigor de 14 genotipos de tomate de cáscara tratadas con productos biológicos comerciales en condiciones de laboratorio.**

Genotipo (g)	Longitud media de radícula (cm)	Longitud media de hipocotilo (cm)	Peso seco (mg)
1	1.78 abc	0.98 cde	15.4 abc
2	0.98 def	1.15 bcd	14.7 abcd
3	1.50 abcde	1.01 cde	11.5 bcde
4	0.82 ef	1.43 bc	16.8 abc
5	1.83 ab	2.17 a	13.1 abcde
6	0.60 f	0.56 ef	1.90 e
7	1.50 bcdef	0.58 ef	4.90 cde
8	1.63 abcd	1.37 bc	20.4 ab
9	0.79 ef	0.84 def	5.70 cde
10	0.85 ef	0.56 ef	5.60 cde
11	1.88 ab	0.98 cde	12.7 abcde
12	0.52 f	0.41 f	3.00 de
13	1.06 cdef	0.72 def	6.40 cde
14	2 a	1.58 b	24.7 a

\*Literales igual son del mismo grupo estadístico.

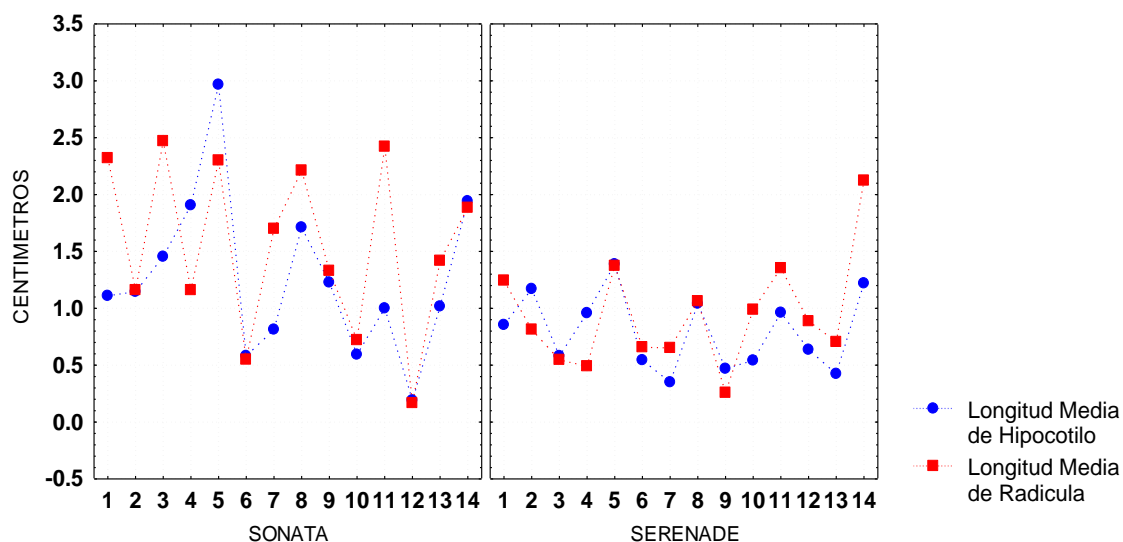
En la prueba de comparación entre tratamiento en las variables LMR y LMH, mostraron que también fueron mejor influenciadas por *B. pumilus* (Sonata), presentando un mayor crecimiento tanto en radícula (1.55 cm) como en hipocotilo (1.26 cm), mostrando así que el uso de los inoculantes biológicos como tratamientos de semilla surten efectos favorables sobre las plantas como el estímulo o promoción de crecimiento propiamente dicho, una más rápida implantación, mayor crecimiento de raíces (Fontantetto *et al.*, 2010); por ende en PS, con el mismo tratamiento resultó obtener los mejores pesos (11.9 mg/plántula) (Cuadro 4.12).

**Cuadro 4.12 Resultados de la prueba de comparación de medias en la calidad fisiológica para pruebas de vigor de 2 tratamientos en semilla de tomate de cáscara tratados con productos comerciales (Sonata y Serenade)**

Tratamiento	Longitud Media de Radícula (cm)	Longitud Media de Hipocotilo (cm)	Peso Seco (mg)
1	1.55 a	1.26 a	11.9 a
2	0.94 b	0.79 b	10.5 a

\*Literales igual son del mismo grupo estadístico.

En la Figura 4.8, muestra que el material genético g14 tuvo la mejor respuesta en LMR tratado con Serenade alcanzando una longitud de más de 2 cm; en cuanto a LMH el tetraploide g5 fue el que tuvo mejor respuesta con el tratamiento biológico Sonata; cabe mencionar que el g12 con dicho tratamiento no tuvo ninguna respuesta de crecimiento.



**Figura 4.8 Cuadros comparativos de los dos tratamientos biológicos (Sonata y Serenade) y su influencia en el crecimiento radicular LMR y vegetativo LMH.**

En cuanto a las concentraciones, la prueba de comparación de medias mostró que a 25 % obtuvimos los mejores resultados en las variables LMR, LMH y PS, mientras que a 0 y 75 %, las respuestas de LMR fueron las más bajas, obteniendo un menor crecimiento radicular de manera general (Cuadro 4.13).

A una concentración de 75 %, la variable LMH, tuvo un efecto negativo en el vigor, obteniendo el más bajo promedio de crecimiento con 0.53 cm de longitud; en cambio en la variable PS se obtuvo el mayor valor (17.2 mg/plántulas) en esta concentración, que a diferencia de la concentración a 0 % resultó con 3.6 mg/plántula) siendo el peso más bajo (Cuadro 4.13).

**Cuadro 4.13 Resultados de la prueba de comparación de medias en la calidad fisiológica para pruebas de vigor en semillas de tomate de cáscara tratados con cuatro concentraciones.**

Conc. (%)	Longitud media de radícula (cm)	Longitud media de hipocotilo (cm)	Peso seco (mg)
0	0.780 c	0.882 c	3.6 c
25	2.044 a	1.541 a	17.2 a
50	1.642 b	1.177 b	15.1 ab
75	0.530 c	0.513 d	8.9 bc

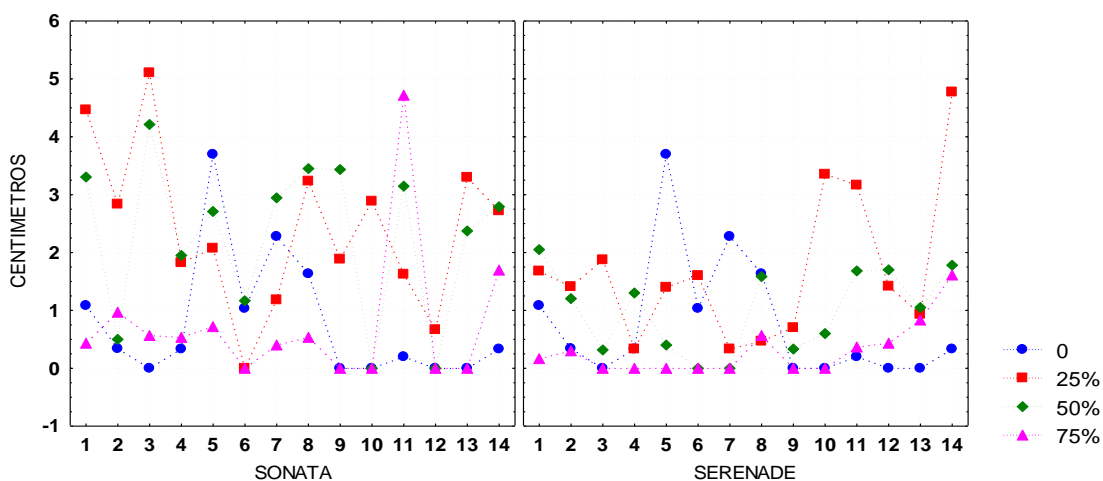


\*Literales igual son del mismo grupo estadístico.

En la Figura 4.9, muestra el crecimiento promedio de radícula de cada material genético medidas del cuello la plántula a la cofia, sobresaliendo las concentraciones 25 y 50 % quienes resultaron con efectos positivos en el crecimiento radicular de la mayoría de los genotipos comparados con la concentración testigo (0 %, usando solo agua).

Los materiales genéticos g1 y g3, resultaron con mejor respuesta de crecimiento radicular al aplicar Sonata al 25 y 50 % teniendo un crecimiento promedio mayor de 4 cm de longitud, es importante mencionar que g11 a pesar de haber tenido un porcentaje de PN debajo del 20 % tuvo en promedio un crecimiento radicular superior a 4 cm de longitud con la concentración mas elevada (75 %).

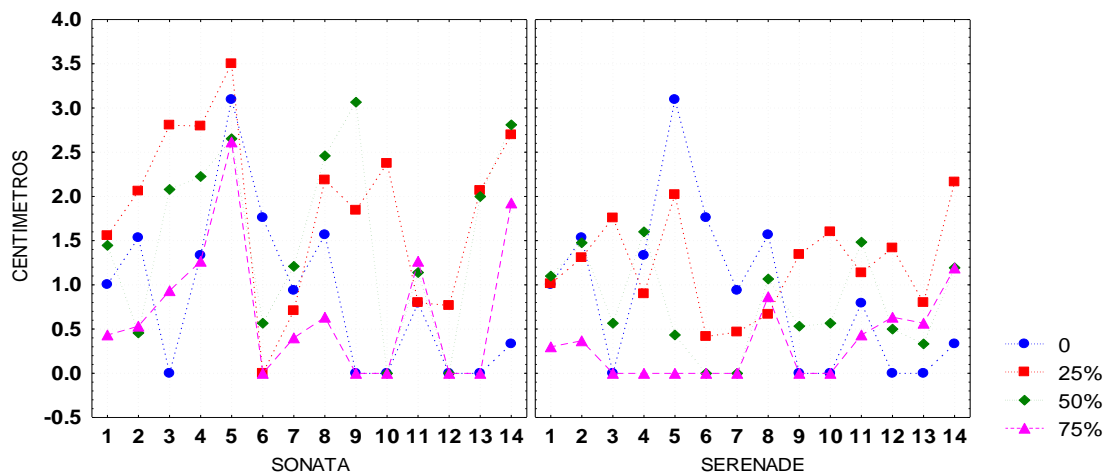
Respecto a Serenade a una concentración de 25 %, g14 fue el más sobresaliente, siendo el único que superó a los 4 cm de longitud promedio siendo superior al resto de los materiales.



**Figura 4.9 Respuesta de la interacción de genotipos, tratamientos y concentraciones para pruebas de vigor en LMR bajo condiciones de laboratorio.**

En cuanto al crecimiento vegetativo, en la Figura 4.10 se muestra la interacción de los genotipos, tratamientos y concentraciones en cuanto a LMH expresado en cm y medidos del cuello al apice del hipocotilo; donde el tratamiento Sonata produjo mejor respuesta en g3, g4, g5 y g14 por tener el

mayor crecimiento vegetativo alcanzando un promedio arriba de 2.5 cm de longitud; sobresaliendo en las concentraciones 25 y 50 %, el material g5 con un vigor de 3.5 cm de longitud. En cambio en el tratamiento con *B. subtilis* (Serenade), resultó ser menos eficaz para estimular el vigor de la semilla en LMH, ya que los materiales estudiados resultaron con valores inferiores a 2 cm, sobresaliendo g14 y g5 por presentar este promedio de longitud; así mismo, es de resaltar que g5 a una concentración de 0 % (testigo con agua) fue el mejor en la respuesta de LMH.



**Figura 4.10** Respuesta de la interacción de genotipos, tratamientos y concentraciones para pruebas de vigor en LMH bajo condiciones de laboratorio.

## CONCLUSIONES

A través de este estudio se concluye lo siguiente:

- El diploide Rendidora en comparación a los tetraploides, resultó tener el mejor rendimiento de semillas a través del peso de semillas por fruto y número de semillas por fruto; así como la mejor calidad física mediante el peso volumétrico seguidos de los tetraploide g13, g7 y g4, pero siendo mejor siempre Rendidora.
- Algunos de los materiales tetraploides, a pesar de tener menos rendimiento de semillas (cantidad de semillas) presentaron mayor calidad fisiológica que el material diploide Rendidora, sobresaliendo g4 y g5 en su porcentaje de viabilidad, plántulas normales y anormales, así mismo en su vigor en la longitud media de radícula e hipocotilo.
- El tratamiento a base de bacterias *Bacillus pumilus* (nombre comercial, Sonata) aplicado como tratamiento a semilla fue el mejor en obtener mayor respuesta en la germinación fisiológica y en el porcentaje de plántulas normales, así como en el vigor en la longitud media de radícula e hipocotilo.

- La concentración a 25 %, se encontró como la más óptima por obtener los mejores resultados en la germinación fisiológica en algunos materiales tetraploides así como para el diploide y en el porcentaje de plántulas normales, también logró dar el mayor vigor mediante longitud media de radícula y longitud media de hipocotilo además de una mayor respuesta en el peso seco de la plántula.

## LITERATURA CITADA

- Ayala, P.J.P. 1992. Caracterización de germoplasma de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa*, Brot.) en Chapingo, México. Tesis de Licenciatura, Departamento de Fitotecnia, UACH. 62 pp.
- AOSA (Association of Official Seed Analysis). 1992. Vigour Testing handbook. Contribution No. 32 to the handbook of seed testing. USA. 6:1-126.
- Bertín, O.D. 2004. Componentes de rendimiento y producción de semilla de raigrás anual, INTA EEA . PP 45
- Castillo, P. I. 1990. Estudio de dos densidades de población, dos sistemas de manejo y tres arreglos topológicos en tomates de cáscara (*Physalis ixocarpa*, Brot). Tesis de licenciatura, Depto. De Fitotecnia Universidad Autónoma Chapingo. 59 pp.
- Díaz, J.C., Pérez, E. 2005. Manejo integrado de malezas en cultivos económicos principales. En Memorias del XVII Congreso de la Asociación Latinoamericana de Malezas, I Congreso Iberoamericano de Ciencia de las Malezas, IV Congreso Nacional de Ciencia de Malezas. Matanzas, Cuba. pp. 153-170.

- Díaz, Z. M., M.V. Fernández-Canigia. 2008. Field performance of a liquid formulation of *Azospirillum brasilense* on dryland wheat productivity, *Eur. J. Soil Biol.* 45: 3-11.
- Ferraris, I. A. G. N., Couretot, L. A., Anta, G. G., & Magnone, T. A. G. 2012. Tratamientos de semilla con microorganismos promotores de crecimiento (PGPM) y micronutrientes en sorgo (*Sorghum bicolor L.*). II Simposio Nacional de Sorgo. Un cultivo perfecto. Pergamino, 1 y 2 de Agosto de 2012.
- Fontanetto, H., Keller, O., Gambaudo, S., Sosa, N., Belotti, L., Negro, C., ... & Boschetto, H. 2010. Efecto de un promotor biológico del crecimiento vegetal y de la fertilización en trigo. INTA EEA Rafaela, Publicación Miscelánea, 116, 50-56.
- Hernández, A., Heydrich, M., Rives, N., Acebo, Y., Hernández, A. N., Diallo, B., & El Jaziri, M. 2013 Aplicación de un biopreparado de origen bacteriano para estimular la germinación de las semillas y el crecimiento vegetal en los cultivos del arroz (*Oryza sativa L.*) y maíz (*Zea mays L.*). *Protección Vegetal.* 29(3): 16-23.
- Hernández, S.M.; 2010. Biocontrol de *Rhizoctonia solani* y *Fusarium sp.* Con Microencapsulados de *Bacillus subtilis* y su Efecto en Crecimiento y Rendimiento de Tomate (*Lycopersicon esculentum Mill.*) *Revista Agraria -Nueva Epoca-* Año VII · Vol. 7 · Nos. 1, 2, 3 · Enero - Diciembre 2010 P.P 18
- Hernández, C.P.; 2008. Potencial antifúngico de cepas de *Bacillus spp.* y extracto de *Larrea tridentata* contra *Rhizoctonia solani* en el cultivo de la papa (*Solanum tuberosum L.*). *Phyton* (B. Aires) v.77 Vicente López ene./dic. 2008
- Hernandez, C.P. 1990. Evaluación de la calidad física de semillas hortícolas mediante equipo mecánico de limpieza. Tesis. Licenclatura. U. A. CH. México. Pp. 16 – 19
- Horovitz, S. y H Jimenez .1961. Avance en la producción commercial de patillas triploides sin semilla. *Agronomía Tropical.* No 4 P.p 144
- Inzunza, C., J. F.; García V., A.; Carballo C., A.; Peña L., A. 1999. Viability, pollen and seed size in husk tomato (*Physalis ixocarpa Brot.*). *Agricultura Técnica en México* 25(1): 69- 77.

- Izquierdo, J.; 2011. FAO, Santiago de Chile, Producción Artesanal de Semillas de Hortalizas para la Huerta Familiar. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, P.p 75
- Jiménez, S.E. 2012. Calidad de fruto de genotipos tetraploides de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa Brot.*). *Universidad y ciencia* [online]. 2012, vol.28, n.2, pp. 154.
- Jimenez, C.P.; 2006. Inducción de tetraploides en tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa Brot.*) Tesis. Licenciatura. UAAAN México.
- Luna, M. L.; 2013. Caracterización de rizobacterias aisladas de tomate y su efecto en el crecimiento de tomate y pimiento Rev. Fitotec. Mex. Vol. 36 (1): 63 - 69, P64
- Martínez, G. R.; 2013. Universidad Autónoma Chapingo Unidad regional universitaria de zonas áridas. Monografía del tomate de cascara (*Physalis ixocarpa, Brot.*) Ingeniería en Sistemas Agrícolas.
- Márquez, F. 1988. Genotecnia vegetal. Tomo II. Primera edición. Pp. 481 AGT Editor México. pp. 471-514
- Melgarejo, L. Marina 2010. Experimentos en Fisiología Vegetal, Ministerio De Agricultura Y Desarrollo Rural Rep. De Colombia, Universidad De Colombia P.p 13.
- Nyon, 2000. Tratamientos de semilla con productos biológicos. Federación Internacional del Comercio de semillas; Comité de Tratamiento de Semillas y del Medio Ambiente (STEC) en la Federación Internacional del Comercio de Semillas (FIS) Suiza.
- Orduña, M.O. Peña, L. 1992. Germinación en tomate de cascara *Physalis ixocarpa Brot.* Revista Chapingo 16 : 78 : 74 – 77
- Orietta, F.L. 2001. Vega Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario 1 Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) No. 62 p . 96 - 100 ,
- Parisod, C. Holderegger, R. Brochmann, C. 2010. Evolutionary consequences of autopolyploidy. *New Phytol.* 186:5-17.
- Pandey, K. K. 1957. Genetics of self-incompatibility in *Physalis ixocarpa Brot.* A new system. *American Journal of Botany* 44: 879- 887.
- Peña, L. A.; Márquez, S. F. 1990. Mejoramiento genético del tomate de cáscara *Physalis ixocarpa Brot.* Revista Chapingo 71- 72: 84-88.

- Pérez, G., M.; Márquez S., F.; Peña L., A. 1997. Mejoramiento Genético de Hortalizas. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Edo. de México. 379 p.
- Peña, L., A.; Molina G., J. D.; Cervantes S., T.; Márquez S., F.; Sahagún C., J.; Ortiz C., J. 1998. Heterosis intervarietal en tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa Brot.*). Revista Chapingo Serie Horticultura 4(1): pp. 31-37.
- Peñaloza, P., Salesiano A. 2001. Semillas de hortalizas. Manual de producción. Impresores S.A. Bulnes 19 Santiago de Chile P.p 34
- Ramsey, J, Schemske DW 2002. Neopolyploidy in flowering plants. Annual Review Ecology and Systematics 33: 589-639.
- Robles, SR. 1986. Genética elemental y fitomejoramiento práctico. Primera edición. Editorial Limusa. México. pp 477.
- Robledo, V.; Jiménez S., Benavides M., Ramírez G.; 2012. Calidad de fruto de genotipos tetraploides de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa Brot.*). *Universidad y ciencia*, vol.28, n.2. 153-161 P.p 157
- Rojas, B. M. M.: 2011. Departamento de Microbiología y Virología, Facultad de Biología, Universidad de la Habana. Calle 25 No. 455 entre Revista CENIC Ciencias Biológicas, Vol. 42, No. 3, pp. 131-138.
- Ruiz, M., Á.; 2009. El análisis de tetrazolio en el control de calidad de semillas. Caso de estudio: cebadilla chaqueña, Artículo Lic. Rec. Nat., MSc en Tecnología de semillas Marzo P.p 7.
- Sahagún, C., J.; Gómez R., F.; Peña L., A. 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.; Cervantes S., T.; Peña L., A. 2004. Selección para rendimiento y calidad de fruto de cruza planta x planta entre dos variedades de tomate de cáscara. Revista Fitotecnia Mexicana 1(27): 85-91.
- SIAP. 2014: Producción agrícola, cultivo: tomate de cáscara modalidad: riego y temporal. *Consulta en lnea 12 de Diciembre del 2014.*
- Valtierra, P., E.; Ramos S., A. 2003. Programa estrategico de necesidades de investigacion y transferencia de tecnologia de la

cadena productiva de tomate verde en el Estado de Puebla. Fundacion PRODUCE Puebla, Gobierno Del Estado De Puebla 237.P.

### **PÁGINAS WEB**

- Acuña, O.N. 2011. Los insumos biológicos. Programa de agricultura organica. Universidad de Chile <http://cep.unep.org/repcar/capacitacion-y-concienciacion/cenat/insumos%20biologicos.pdf>
- [http://s3.esoft.com.mx/esofthands/include/upload\\_files/4/Archivos/Tomacillo1.pdf](http://s3.esoft.com.mx/esofthands/include/upload_files/4/Archivos/Tomacillo1.pdf)
- <http://132.248.10.25/era/index.php/rera/article/viewFile/23/23>
- <http://cienciauanl.uanl.mx/?p=610>
- Raigón, J.M. 2010. Polinización en alfalfa. Producción de semillas. [http://inta.gob.ar/documentos/polinizacion-en-alfalfa.-produccion-de-semillas-1/at\\_multi\\_download/file/POLINIZACION%20EN%20ALFALFA%20\\_folleto\\_.pdf](http://inta.gob.ar/documentos/polinizacion-en-alfalfa.-produccion-de-semillas-1/at_multi_download/file/POLINIZACION%20EN%20ALFALFA%20_folleto_.pdf)
- <http://www.exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/Metodos%20de%20 analisis%20de%20semillas.pdf>
- (<http://www.incotec.com/br/es/3-59/aplica%C3%A7%C3%A3o-de-ativos-e-aditivos.html>)