



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
EXTENSIÓN LA MANÁ

**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS
NATURALES**

CARRERA INGENIERIA AGRONÓMICA

PROYECTO DE TITULACIÓN

**ESTABLECIMIENTO DE UN PROTOCOLO DE PROPAGACIÓN *IN VITRO* A PARTIR DE
EXPLANTES APICALES DE TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betaceum*), EN EL CANTÓN
CEVALLOS.**

Proyecto de Investigación presentado previo a la obtención del Título de Ingeniero/a
Agrónomo/a

AUTORES:

Ramos Cuásquer David Andrés

Rea Oña Tatiana Ximena

TUTOR:

MSc Ing. Quinatoa Lozada Eduardo Fabian

LA MANÁ-ECUADOR

AGOSTO-2022

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Nosotros, Rea Oña Tatiana Ximena y Ramos Cuásquer David Andrés declaramos ser autores del presente proyecto de investigación: “Establecimiento de un protocolo de propagación *in vitro* a partir de explantes apicales de tomate de árbol (*Solanum betaceum*), en el Cantón Cevallos” siendo el MSc Ing. Quinatoa Lozada Eduardo Fabian. Tutor del presente trabajo; y eximo expresamente a la Universidad Técnica de Cotopaxi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

Además, certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de nuestra exclusiva responsabilidad.



Ramos Cuásquer David Andrés
C.I. 1724400419

z



Rea Oña Tatiana Ximena
C.I. 1208560746

AVAL DEL TUTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

En calidad de Tutor del Trabajo de Investigación sobre el título: “Establecimiento de un protocolo de propagación *in vitro* a partir de explantes apicales de tomate de árbol (*Solanum betaceum*), en el Cantón Cevallos” de la Carrera de Ingeniería Agronómica, considero que dicho Informe Investigativo cumple con los requerimientos metodológicos y aportes científico-técnicos suficientes para ser sometidos a la evaluación del Tribunal de Validación de Proyecto que el Honorable Consejo Académico de la Facultad Académica de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales de la Universidad Técnica de Cotopaxi designe, para su correspondiente estudio y calificación.

La Maná 9 de agosto 2022



Ing. Quinatoa Lozada Eduardo Fabian MSc
C.I: 1804011839
TUTOR

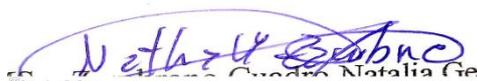
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TITULACIÓN

En calidad de Tribunal de Lectores, aprueban el presente informe de investigación de acuerdo a las disposiciones reglamentarias emitidas por la Universidad Técnica de Cotopaxi, y por la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, por cuanto las postulantes: Rea Oña Tatiana Ximena y Ramos Cuásquer David Andrés con el título de Proyecto de Investigación: Establecimiento de un protocolo de propagación *in vitro* a partir de explantes apicales de tomate de árbol (*Solanum betaceum*), en el Cantón Cevallos, han considerado las recomendaciones emitidas oportunamente y reúne los méritos suficientes para ser sometido al acto de sustentación del proyecto.

Por lo antes expuesto, se autoriza realizar los empastados correspondientes, según la normativa institucional.

La Maná 25 agosto del 2022

Para constancia firman:



MSc. Zambrano Cuadro Natalia Geoconda
C.I :120624142-2
(PRESIDENTE)



MSc. Macías Pettao Klever Ramón
C.I: 091074328-5
LECTOR 1 (MIEMBRO)



MSc. Ramírez Cruz Andrés Fernando
C.I: 0704827674
LECTOR 2 (SECRETARIO)

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, doy gracias a Dios por permitirme tener buenas experiencias dentro de la universidad, gracias a esta institución por permitirme y ayudarme a convertirme en ser un profesional de esta rama.

Gracias a mis padres por ser los principales promotores de mi educación, por confiar y creer en mis expectativas, por los consejos, valores y principios que nos han inculcado. Así mismo a mis familiares por cada uno de sus consejos.

Agradezco a mis docentes de la Universidad Técnica de Cotopaxi “Extensión La Maná” en especial a mi director de proyecto Ing. Quinatoa Eduardo, por ayudarme con sus conocimientos quien nos ha guiado con su paciencia, y su rectitud como docente para finalizar este proyecto.

Tatiana

David

DEDICATORIA

Este proyecto de investigación está dedicado

Primeramente, a Dios, gracias por haberme dado la vida, acompañamiento a lo largo de toda mi carrera, por ser la luz de mi camino por darme sabiduría, fortaleza para alcanzar mi objetivo con responsabilidad.

A nuestros padres y abuelos que gracias a su amor, paciencia, sacrificio y esfuerzo nos permitieron llegar a nuestra meta, muchos de mis logros se los debo a ustedes entre los que se incluye este. Me formaron con reglas y libertades, pero al final de cuentas, me motivaban constantemente a cumplir mis anhelos.

Tatiana

Primeramente, doy gracias a Dios, por darme la vida para llegar hasta estas alturas, doy gracias a mis padres por tenerme mucha paciencia, mi madre que siempre a estado a mi lado y mi padre que lo amo mucho, mis abuelos que siempre me ayudan a pensar en grande, agradezco, a Ximena Rea por ser la mujer que me inspira cada día a ser mejor.

Ramos

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

TÍTULO: “ESTABLECIMIENTO DE UN PROTOCOLO DE PROPAGACIÓN *IN VITRO* A PARTIR DE EXPLANTES APICALES DE TOMATE DE ÁRBOL (*SOLANUM BETACEUM*), EN EL CANTÓN CEVALLOS”

Autores: Ramos Cuásquer David Andrés

Rea Oña Tatiana Ximena

RESUMEN

La presente investigación se desarrolló en el laboratorio de biotecnología “VITRO PLANTAS”, que se encuentra ubicado en el Cantón Cevallos de la Provincia de Tungurahua. El tomate de árbol es uno de los cultivos de gran importancia y además el impacto social y económico dentro de las familias de los productores, por la proliferación de enfermedades, es por ello que su propagación se ha visto afectada ya que después de cierto tiempo se pierde pureza varietal, por esta razón se desarrolló la investigación con el objetivo general: Determinar un protocolo de propagación in vitro a partir de explantes apicales de tomate de árbol (*Solanum Betaceum*), se planteó los siguientes objetivos específicos: se estandarizó el método de desinfección de explantes de tomate de árbol que permita establecer in vitro con bajos niveles de contaminación, se determinó el medio de cultivo ideal para la fase de multiplicación de los explantes de tomate de árbol en condiciones in vitro. Los tratamientos a utilizar son: T1 MS + AIA (mg/L) + BAP(1mg/L); T2 MS + BAP (1mg/L); T3 MS + BAP (0.25mg/L) + GA3 (0.25mg/L); T4 MS (Testigo). Se determinó que de los 4 tratamientos utilizados el T4 denominado como testigo MS con una concentración de 2,5 g da mejores resultados, como segundo mejor tratamiento T3 con el medio de cultivo MS+BAP(0.25mg/L) + GA3(0.25mg/L), obteniendo resultados en variables de longitud de brotes y número de hojas por explante, el medio de cultivo con más bajo resultado fue el T2 MS + BAP 1mg/L, porque , se obtuvo el promedio más bajo en las variables tales como número de hojas por explante y longitud de brotes.

Palabras claves: Tomate de árbol, hormonas, in vitro, medios de cultivo, propagación. Murashige y skoog, Bencilaminopurina, ácido indo acético, ácido Giberélico.

ABSTRACT

This research was carried out in the biotechnology laboratory "VITRO PLANTAS", which is located in Cevallos Canton, Tungurahua Province. The tree tomato is one of the crops of great importance and the social and economic impact on growers and their families, by the proliferation of diseases, which is why its propagation has been affected because after a certain time varietal purity is lost, for this reason, the general objective of this research was to determine a protocol for in vitro propagation from apical explants of tree tomato (*Solanum Betaceum*), the following specific objectives were the method of disinfection of tree tomato explants to establish low levels of contamination in vitro. This research determined the ideal culture medium for the multiplication phase of tree tomato explants in vitro conditions. The treatments used are: T1 MS + AIA (mg/L) + BAP(1mg/L); T2 MS + BAP (1mg/L); T3 MS + BAP (0.25mg/L) + GA3 (0.25mg/L); T4 MS (Control). As a result of the 4 treatments, the T4 MS control with a concentration of 2.5 g gave better results, the second best treatment was T3 with the culture medium MS + BAP (0.25mg/L) + GA3 (0.25mg/L), obtaining results in variables such as shoot length and several leaves per explant, the culture medium with the lowest result was T2 MS + BAP 1mg/L because the lowest average was obtained in variables such as several leaves per explant and shoot length.

Keywords: tree tomato, hormones, in vitro, culture media, propagation. Murashige and Skoog, Benzylaminopurine, indo acetic acid, gibberellic acid.

ÍNDICE

PORTADA	i
DECLARACIÓN DE AUTORÍA	ii
AVAL DEL TUTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	iii
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TITULACIÓN.....	iv
AGRADECIMIENTO	v
DEDICATORIA.....	vi
RESUMEN	vii
ABSTRACT	viii
1. INFORMACIÓN GENERAL	1
2. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO	2
3. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO	3
4. BENEFICIOS DEL PROYECTO	4
4.1. Beneficios directos:	4
4.2. Beneficiarios Indirectos:.....	4
5. PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN.....	4
6. OBJETIVOS.....	5
6.1. Objetivo general	5
6.2. Objetivos específicos.....	5
7. ACTIVIDADES Y SISTEMAS DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS.....	6
8. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA.....	7
8.1. Clasificación Taxonómica	7
8.2. Nombre científico	7
8.3. Tomate de árbol (Solanum betaceum).....	7
8.3.1. Generalidades	7
8.4. Descripción Botánica.....	8
8.4.1. Semilla.....	8
8.4.2. Raíz.....	8
8.4.3. Tallo.....	9
8.4.4. Hoja	9
8.4.5. Flores	9
8.4.6. Frutos	9
8.5. Requerimientos edafoclimáticos.....	9

8.5.1. Suelo	9
8.5.2. Clima	10
8.5.3. Humedad.....	10
8.5.4. Luminosidad	10
8.6. abores culturales	10
8.6.1.Podas.....	10
8.6.2. Deshierbas	10
8.6.3. Riegos	11
8.6.4. Fertilización.....	11
8.7. Propagación	11
8.7.1. Reproducción sexual	11
8.7.2. Propagación asexual.....	11
8.8. Situación del cultivo en el Ecuador	12
8.8.1. El cultivo de tomate de árbol en el Ecuador.....	12
8.8.2. Superficie cultivada	12
8.8.3. Importancia Económica.....	12
8.9. Composición nutricional.....	13
8.10. Problemas fitosanitarios	14
8.10.1. Antracnosis (Collectrichum gloeosporioides)	14
8.10.2. Medidas de combate para la antracnosis	14
8.10.3. Paratrioza (Paratrioza cockerelli)	15
8.10.4. Que es la Biotecnología.....	15
8.10.5. Agrobiotecnología.....	15
8.10.6. Mejora de variedades en función de caracteres de interés agronómico:	16
8.10.7. Cultivo de tejidos vegetales.....	16
8.10.8. Cultivo in vitro.....	16
8.11. Tipos de cultivos in vitro	17
8.11.1. Cultivos organizados: cultivo de órganos o fragmentos.....	17
8.11.2. Cultivos desorganizados.....	17
8.11.3. Cultivo de meristemas.....	17
8.11.4. Cultivo de segmentos nodales y ápices de vástago	17
8.11.5. Propagación de plantas por cultivo in vitro	18
8.12. Fases del cultivo in vitro.....	18
8.12.1. Protocolo de desinfección.....	18

8.13. Medios de cultivos.....	19
8.13.1. Medio de cultivo de Murashige y Skoog.....	19
8.13.2. Medio de cultivo de Phytamax.....	20
8.13.3. Woody Plant Medium.....	20
8.14. Reguladores de crecimientos.....	20
8.14.1. 6-Benzilaminopurine (BAP).....	21
8.14.2. Ácido indol acético (AIA).....	21
8.14.3. Ácido Giberélico (GA3).....	21
8.15. Tipos de azúcares.....	21
8.15.1. Sacarosa.....	21
8.15.2. Glucosa.....	21
8.15.3. Fructosa.....	22
8.16. Agente gelificante.....	22
8.16.1. Agar.....	22
8.16.2. Según su estado físico.....	22
8.16.2.1. Estado liquido.....	22
8.16.2.2. Estado Solido.....	22
8.17. Etapas de cultivo in vitro.....	23
8.17.1. Fase 0: Preparación de la planta madre.....	23
8.17.2. Fase 1: desinfección del material.....	23
8.17.3. Fase 2: Introducción de material In-vitro.....	24
8.17.4. Fase 3: Multiplicación.....	24
8.17.5. Fase 4: Enraizamiento.....	24
8.17.6. Fase 5: Aclimatación.....	24
8.18. Proyectos de investigación realizada.....	25
9. PREGUNTAS CIENTÍFICAS O HIPÓTESIS.....	27
10. METODOLOGÍA.....	27
10.1. Localización y duración.....	27
10.2. Condiciones agro-meteorológicas.....	27
10.3. Materiales y equipos.....	28
10.4. Medio de cultivo.....	29
10.5. Tratamiento de estudio.....	31
10.6. Diseño experimental.....	31
10.7. Esquema del experimento.....	32

10.8. Manejo del ensayo	32
10.8.1. Estratificación de semillas	32
10.8.2. Desinfección de la semilla.....	32
10.8.3. Preparación de medio de cultivo para establecimiento in vitro.....	33
10.8.3. Siembra del explante (semilla)	33
10.8.4. Etapa de multiplicación	33
10.9. Variables evaluadas	34
10.9.1. Porcentaje de contaminación.....	34
10.9.2. Porcentaje de sobrevivencia	34
10.9.3. Longitud de brote (cm).....	35
10.9.4. Número de hoja por explante.....	35
10.9.5. Porcentaje de callo.....	35
10.9.6. Largo de raíz (cm)	35
10.9.7. Número de raíz por explante	35
11. RESULTADO Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	35
11.1. Porcentaje de contaminación.....	35
11.2. Porcentaje de sobrevivencia	36
11.3. Longitud de brote (cm).....	37
11.4. Número de hojas por explante	38
11.5. Porcentaje de callo.....	39
11.6. Largo de la raíz (cm)	39
11.7. Número de raíz por explante	40
11.8. Análisis de costo.....	41
12. IMPACTOS (TECNICOS, SOCIALES Y AMBIENTALES).....	42
12.1. Técnico	42
12.2. Social	42
12.3. Ambiental	43
12.4. Económico.....	43
13. PRESUPUESTO.....	43
14. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	45
14.1. Conclusiones.....	45
14.2. Recomendaciones	45
15. BIBLIOGRAFÍA	46

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Actividades y sistemas de tareas en relación a los objetivos planteados.	6
Tabla 2: Clasificación taxonómica de tomate de árbol.....	7
Tabla 3: Estadística de precio en el mercado Nacional	13
Tabla 4: Composición Nutricional del Tomate de Árbol	13
Tabla 6: Condiciones controladas en el laboratorio.	28
Tabla 7: Materiales y equipos.....	29
Tabla 8: Medio de cultivo y reguladores de crecimiento para un litro de solución, establecimiento.	30
Tabla 9: Medio de cultivo y reguladores de crecimiento para un litro de solución multiplicación.....	30
Tabla 10: tratamientos de la investigación.	31
Tabla 11: Esquema de análisis de varianza	31
Tabla 12: Esquema de tratamientos.....	32
Tabla 13: porcentaje de sobrevivencia	37
Tabla 14: Resultado de longitud de los brotes (LB) durante los 21 días.....	37
Tabla 15: Resultado de numero de hojas por explantes los durante los 21 días.....	38
Tabla 16: presencia de callo	39
Tabla 17: Resultado de largo de la raíz por explantes los durante los 21 días.	40
Tabla 18: Resultado de largo de la raíz por explantes los durante los 21 días.	41
Tabla 19: Análisis de costos de la investigación realizada.....	42
Tabla 20: Presupuesto de la investigación.....	44
Tabla 21: materiales, equipos y reactivos.....	61
Tabla 22: Soluciones	62
Tabla 23: fase de multiplicación in vitro	62

ÍNDICE DE GRÁFICO

Gráfico 1: Porcentaje de contaminación.....	36
--	----

ÍNDICE DE ANEXOS

17. Anexos	53
Anexo 1: Hoja de vida del docente.....	53
Anexo 2: Hoja de Vida del estudiante investigador.	54
Anexo 3: Hoja de Vida del estudiante investigador.	55
Anexo 4: CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR.....	56
Anexo 5: Certificación de anti plagio URKUN.....	59
Anexo 6: Certificado del Aval de Abstracto	60
Anexo 7: Protocolo.....	61
Anexo 8: Preparación del material de partida de tomate.....	63
Anexo 9: Desinfección del material de partida del tomate de árbol.....	63
Anexo 10: Fase de introducción in vitro	63
Anexo 11: Fase de multiplicación de tomate de árbol.....	64
Anexo 12: Fotografía de diferentes tratamientos.	64
Anexo 13: Variables a evaluar.....	65

1. INFORMACIÓN GENERAL

Título del Proyecto:	Establecimiento de un protocolo de propagación <i>In Vitro</i> a partir de explante apicales de tomate de árbol (<i>Solanum betaceum</i>), en el Cantón Cevallos.
Fecha de inicio:	Abril 2022
Fecha de finalización:	Agosto 2022
Lugar de ejecución:	Cantón Cevallos, Barrio San Fernando, Provincia Tungurahua
Unidad Académica que auspicia:	Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales
Carrera que auspicia:	Carrera de Ingeniería Agronómica
Proyecto de investigación vinculado:	Al sector Agrícola
Equipo de Trabajo:	MSc Ing. Quinatoa Lozada Eduardo Fabian director del proyecto Ramos Cuásquer David Andrés Rea Oña Tatiana Ximena
Área de Conocimiento:	Agricultura, Silvicultura y pesca
Línea de investigación:	Desarrollo y Seguridad Alimentaria
Sub líneas de investigación:	Tecnología para la agricultura

2. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO

El arbusto de árbol (*Solanum betaceum*) es uno de los miembros más importantes de la familia Solanáceae y del género *Solanum* cultivado en América del Sur. El tomate de árbol es originario de climas tropicales y subtropicales, se encuentra desde Colombia hasta Perú, y crece de 1600 a 2400 msnm, es una planta perenne y de semisombra, su altura puede variar de 3,0 m a 5,5 m de altura, (Salazar, 2020).

La investigación se desarrolló en el laboratorio de biotecnología "VITROS PLANTAS" ubicado en el Cantón Cevallos, Provincia de Tungurahua y el proyecto se basó en el establecimiento de un protocolo de propagación *in vitro*, a partir de explante apicales de tomate de árbol (*Solanum betaceum*); con diferentes medios de cultivos, por lo cual se estableció un protocolo de micropropagación para realizar la multiplicación del tomate de árbol, los pasos realizados fueron la aplicación del ácido giberélico para el ablandar la corteza de la semilla, los mismos que en la fase de establecimiento o introducción al laboratorio se realiza una desinfección con alcohol etílico al 70% durante 5 min e hipoclorito de sodio al 70% durante 10 minutos; enjuagando sucesivamente con agua destilada el 30% y con la ayuda de una cabina de flujo laminar para garantizar la asepsia.

Luego de esterilizadas las semillas, se agregaron al medio de cultivo con Murashige y skoog vitaminas y reguladores de crecimiento Bencilaminopurina, así como Ácido Giberélico y Agar como agente gelificante en un frasco de vidrio y se colocaron en condiciones ambientales controladas. La etapa de propagación tiene lugar cuando las semillas producen los brotes necesarios. Donde se extrajeron muestras de explantes apicales, se procedió a preparar como tratamientos para la micropropagación medios de cultivo; con sales de Murashige y skoog, diferentes reguladores de crecimiento como Ácido Indol Acético, Bencilaminopurina, Ácido Giberélico y control libre de hormonas testigo para determinar las hormonas más potentes, y luego las variables en estudio tales como porcentaje de contaminación, porcentaje de sobrevivencia, longitud de brote, número de hojas por explante, porcentaje de callo, largo de la raíz y número de raíz por explante.

3. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

En Ecuador existe alrededor de 40 sitios de producción de tomate, con una superficie total de 260,000 hectáreas, atendidos por una estación de servicio. En 2014, Ecuador exportó alrededor de 5,1 toneladas (millones de toneladas) de fruta fresca a Alemania, Canadá, España, Holanda, Italia y Japón con más de 130 envíos de animales pequeños. Servicio de Inspección de Sanidad Vegetal del USDA, 2018, (Moreno *et al.*,2020).

Según el Instituto Nacional de Investigación de Agropecuarias (2018), menciona que, las pérdidas de plantas obtenidas en los semilleros o en macetas, incluso aunque el cultivo se realice en un sustrato, la producción en semilleros va tener una influencia de contaminación por *Fusarium sp.* La influencia directa de las pérdidas de producción y afectación económica, se dará por el mal manejo de las plantas en los semilleros.

Es por esto que surge la necesidad de aplicar nuevas herramientas biotecnológicas en este importante cultivo, para mejorar la obtención de plantas destinadas a la producción. Algunas entidades del país ya están realizando propagación *in vitro* a través de explantes nodales, lo que garantiza la obtención de plantas libres de algunas enfermedades vasculares, además existen cultivos establecidos con estas plantas y los resultados en rendimiento y la calidad promisorios.

La técnica de cultivo *in vitro* es una alternativa potencial e importante para la conservación genotípica y permite además la obtención de un número elevado de plantas en un espacio reducido y bajo condiciones controladas que evitan la contaminación de diferentes agentes.

Es una herramienta útil en programas de mejoramiento, ya que tiene el potencial de producir plantas de calidad uniforme a escala comercial, a partir de un genotipo selecto y con una tasa de multiplicación ilimitada con las diversas aplicaciones que presentan los cultivos *in vitro* se puede acceder a un material vegetal de excelente calidad sanitaria y con más vigor que el obtenido por los métodos de propagación convencionales, (Ramírez & Morayma, 2012).

4. BENEFICIOS DEL PROYECTO

4.1 Beneficios directos:

Los principales beneficiarios con la ejecución de este proyecto son aproximadamente 300 grandes y pequeños agricultores a nivel local especialmente los productores de tomate de árbol.

4.2 Beneficiarios Indirectos:

Este proyecto beneficia indirectamente a la universidad técnica de Cotopaxi entre ellos los estudiantes y carrera de Agronomía.

5. PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN

El tomate de árbol (*Solanum betaceum*) llega a medir hasta tres a cinco metros de altura y pertenece a la familia *Solanaceae*, la misma a la que pertenecen la patata, el tomate y la berenjena. Es originario de la región andina de Sudamérica y ampliamente cultivado en toda la zona, desde el norte de Chile y Argentina hasta el sur de México y, de manera especial, en Ecuador donde en los últimos meses se ha visto afectado el cultivo de tomate de árbol por la paratrioza (*Bactericera cockerelli* Sulc) que se caracteriza por ser un insecto chupador que se alimenta de la savia de plantas, especialmente solanáceas. La paratrioza transmite una foto plasma el cual causa la enfermedad conocida por punta morada, (Levitus *et al.*, 2004).

Según la autora Marcalla (2020), menciona que, en la provincia de Tungurahua, la afectación de la enfermedad punta morada en tomate de árbol es considerable, afectando a zonas como Patate, Pelileo, Cevallos; dejando grandes pérdidas económicas a los productores que se dedican a este importante cultivo. Es notorio encontrar parcelas en las que antes se cultivaba tomate de árbol, se ha cambiado por otro cultivo, o simplemente, se encuentran abandonados.

Otro de los problemas a nivel local que se suma a la punta morada es la poca disponibilidad de plantas certificadas libre de plagas y enfermedades que garantice una producción de calidad. El desarrollo de tecnologías para la producción de plántulas es necesario para alcanzar su máximo potencial. La propagación del tomate de árbol es principalmente por semilla, y la emergencia de plántulas de semillas de tomate de árbol es baja y desigual, lo que impide la formación de plántulas de calidad. La latencia también es un problema directamente relacionado con la germinación y el almacenamiento de semillas de tomate de árbol.

La micropropagación es una de los estudios más generalizados del cultivo *in vitro*, a partir de un fragmento (explante) de una planta madre, se obtiene una descendencia uniforme, con plantas genéticamente idénticas, denominadas clones.

Con la tecnología se ha evaluado diferentes alternativas para aumentar la disponibilidad de plantas a muy corto plazo, lo que es imposible de obtener en nuestro medio con métodos convencionales (propagación por estacas o semillas), lo que se pierde el vigor genético, pero sí es posible mediante el cultivo "*in vitro*", ya que nos da como resultado plantas homogéneas, con mismas rasgos genéticos también se obtiene gran cantidad de plantas en poco tiempo, así podemos abastecer lo que es el mercado global.

6. OBJETIVOS

6.1 Objetivo general

Determinar un protocolo de propagación *in vitro* a partir de explantes apicales de tomate de árbol (*Solanum Betaceum*).

6.2 Objetivos específicos

- Estandarizar el método de desinfección de explantes de tomate de árbol que permita establecer *in vitro* con bajos niveles de contaminación.
- Determinar el medio de cultivo ideal para la fase de multiplicación de los explantes de tomate de árbol en condiciones *in vitro*.
- Realizar el análisis de costos de los tratamientos en estudio.

7. ACTIVIDADES Y SISTEMAS DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS.

Tabla 1: Actividades y sistemas de tareas en relación a los objetivos planteados.

OBJETIVOS	ACTIVIDADES	RESULTADOS	VERIFICACION
Estandarizar el método de desinfección de explantes de tomate de árbol que permita establecer <i>in vitro</i> con bajos niveles de contaminación.	Esterilizar mediante soluciones de alcohol al 70% más agua destilada al 30% para la eliminación de cualquier agente patógeno.	Porcentaje de contaminación	<ul style="list-style-type: none"> • Frascos contaminados. • Libreta.
Determinar el medio de cultivo ideal para la fase de multiplicación de los explantes de tomate de árbol en condiciones <i>in vitro</i>.	Elaboración de medios de cultivos, con los nutrientes necesarios para el desarrollo y crecimiento de los explantes apicales del cultivo de tomate.	<ul style="list-style-type: none"> • Variables • Altura de brote. • Formación del callo. • Número de brotes por explantes. 	<ul style="list-style-type: none"> • Libreta • Flexómetro • Medio del cultivo.
Realizar el análisis de costos de los tratamientos en estudio.	Registro de costos de cada tratamiento.	Análisis de costos de cada tratamiento	Contabilidad de costo

Elaborado por: Ramos y Rea (2022).

8. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA

8.1 Clasificación Taxonómica

Tabla 2: Clasificación taxonómica de tomate de árbol

TOMATE DE ARBOL (<i>Solanum betaceum</i>)	
Reino	Plantae
División	Angiospermae
Clase	Magnoliopsida
Orden	Solanales
Familia	Solanaceae
Genero	Solanum
Especie	<i>Solanum betaceum</i>
Nombre común	Tomate de árbol

Fuente: Buono et al., (2018).

Elaborado por: Ramos y Rea (2022).

8.2 Nombre científico

El arbusto de tomate árbol es una planta diploide con 24 cromosomas, originalmente clasificada como *Solanum betaceum* en 1799 fue transferida al género *Cyphomandra*, donde pertenecía hasta hace poco, cuando en 1995 la restauró en *Solanum*, mencionando el cambio de nombre. Como resultado de una investigación molecular con ADN de cloroplastos realizada con los investigadores en 1992, y posteriormente complementada por el trabajo de Bohs en 1998, lo que justificaría el cambio de nombre de la planta, (Barriga, 2012).

8.3 Tomate de árbol (*Solanum betaceum*)

8.3.1 Generalidades

El tomate árbol (*Solanum betaceum*) es una especie nativa de los Andes cuya domesticación y cultivo son anteriores al descubrimiento de América. Fue una especie cultivada por los antiguos habitantes del Perú, Chile, Ecuador, Bolivia, Brasil y Colombia, (Buono et al., 2018).

Por otro lado los autores Revelo *et al.*, (2004), Se informó que el nombre científico de la planta de tomate de árbol fue claramente identificado como (*Solanum Betaceum*) en 1995, reemplazando el nombre científico anterior (*Cyphomandra betacea*); esta fruta incluye de 35 a 50 especie nativas de América tropical; hace varios años, muchos autores sugirieron que el

tomate de árbol era originario de la región andina, principalmente de las vertientes orientales de Perú, Ecuador y Colombia, e investigaciones recientes indican que el tomate de árbol cultivado, está estrechamente relacionado con el complejo de materiales silvestres bolivianos según esta evidencias moleculares, estudios morfológicos y datos de campo.

Los mismos autores Revelo *et al.*, (2004), argumentan que la mata de tomate de árbol corresponde al biotipo de un arbusto semileñoso, de 2-3 metros de altura, con ciclo vegetativo perenne, que crece en altitudes entre 1.000 a 3.000m sobre el nivel del mar. En altitudes inferiores a 1.000 m.s.n.m. no da buenos frutos porque la temperatura de la noche no es lo suficientemente baja. Es una planta de climas templados y fresco, cuya temperatura varía entre 13° y 24° C. No necesita mucha humedad del aire, razón por lo que a menudo, se cultiva en tierras altas con clima seco, crece en una amplia gama de suelos, siendo los mejores los de textura franca, ricos en materia orgánica.

El tomate de árbol es de gran importancia medica debido a su riqueza en vitaminas y nutrientes, incluyendo propiedades para reducir el colesterol, alto contenido en fibra, vitaminas A, B, C y K, y su bajo nivel de calorías. Rico en minerales, entre ellos: calcio, hierro y fósforo, y contiene altos niveles de proteína y caroteno. Además, fortalece el sistema inmunológico y la visión, además, actúa como antioxidante y por último es una buena fuente de pectina. Siendo una fruta muy demandada en todo el mundo y en constante demanda, es claro que la búsqueda de tecnología para obtener plantas de calidad y en menor tiempo solo beneficiara tanto a productores, como solo a los agricultores que adquieran este material, (Flores, 2007).

8.4 Descripción Botánica

8.4.1 Semilla

La semilla puede llegar a medir de 2 a 4 mm puntos son de forma aplanada y lenticular. Presentan un color blanco y están recubiertas por un silo de pigmentos anaranjados, rojizos o morados puntos se pueden encontrar de 200 a 400 semillas por fruto, (Padilla , 2013).

8.4.2 Raíz

Alcanza un metro de profundidad, presentando la mayor concentración de pelos absorbentes en los primeros 50 cm. Seguido las raíces que se generan de semillas son pivotantes, profundas y ramificadas, mientras que las provenientes de estacas son superficiales, (Yaguache, 2009).

8.4.3 Tallo

El tallo presenta en color verde en sus primeros estados y café en Estados maduros. Su forma es cilíndrica recta y consistencia se milenios a punto puede alcanzar hasta 3 metros de altura, (Cámara de comercio de Bogotá. , 2015).

8.4.4 Hoja

Las hojas son enteras con formas de corazón y ligeramente sustentas. Las hojas de la parte bajan pueden medir entre 40 y 50 cm, mientras que las hojas secundarias y terciarias alcanzan 20 cm, (Buenaño et al., 2021).

8.4.5 Flores

Las flores los racimos se generan en las axilas, sobre o debajo de las hojas se pueden encontrar hasta 40 flores de color morado con blanco o púrpura. La polinización se realiza de manera cruzada, (Merelo, 2013).

8.4.6 Frutos

El fruto tiene forma ovalada, ovoide o redonda con forma de péndulo alargado. Su color varía según la especie, pueden ser amarillas, rojas, moradas o anaranjadas y su pulpa es anaranjada o amarilla, (Mesa & Mendez , 2017).

8.5 Requerimientos edafoclimáticos

8,5.1 Suelo

Tal como la Cámara de comercio de Bogotá (2015), que la siembra de tomate de árbol prospera mejor en suelos con francos de textura media a suelos franco arenosa permeables, profundos. Que tengan un buen contenido de materia orgánica y que no sean altos en materia orgánica arcillosa arcilla o arena. Se adapta bien a suelos ligeramente ácidos, con un pH entre 5,5 y 6,5. El cultivo no tolera el suelo compactado sin oxidación. El drenaje debe ser suficiente por el encharcamiento puede matar las plantas en cuestión de días.

8.5.2 Clima

Padilla (2013), indica que la temperatura óptima para la siembra es de 14 a 20 °C, a temperaturas inferiores a 4 °C, el follaje se destruye por completo, pues es muy susceptible a bajas temperaturas. No tolera los vientos fuertes, ya que las flores se caen, las ramas se rompen y las hojas se dañan.

8.5.3 Humedad

Estudios señalan que para su desarrollo y crecimiento del cultivo requiere de una humedad relativa óptima de un 70% a un 80%, para favorecer a la polinización, que no sea necesario regarlas con frecuencia y permita una aireación adecuada, debe ser libre de malezas, nematodos, y otros organismos patógenos, (Martínez *et al.*, 2001).

8.5.4 Luminosidad

La luminosidad es un factor muy importante para el desarrollo de esta especie ya que prefiere ambientes de elevada nubosidad o situaciones en la que se encuentre sombreado por la copa de los árboles. Tiene una débil tolerancia al viento por su tipo de anclado en el suelo, además por el tamaño de las hojas y por la fragilidad de las ramas al quiebre, (Buono *et al.*, 2018).

8.6 Labores culturales

8.6.1 Podas

Los árboles de tomate deben podarse muy ligeramente; Cuando el árbol tiene unos 50 cm de altura, se realiza la poda, cortando los brotes superiores, las ramas secas y enfermas, (Vargas *et al.*, 2018).

8.6.2 Deshierbas

Las malezas se eliminan manualmente a lo largo de la copa de cada planta, y se puede utilizar una pala, (Viteri *et al.*, 2010).

8.6.3 Riegos

Los sistemas de riego más utilizados son por surcos paralelos, en zigzag o patrón en zigzag y por coronas simples. La frecuencia de riego depende de las condiciones climáticas actuales; Usualmente la frecuencia es cada 10 a 15 días, (Yupanqui, 2014).

8.6.4 Fertilización

La fertilización se realiza cada seis meses, utilizando 2 o 3 kg. Estiércol de pollo o una mezcla, más 80 g de fertilizante químico 8-20-20 o 10-30-10: se debe aplicar un material de partida a cada planta, (Benavides, 2011).

8.7 Propagación

8.7.1 Reproducción sexual

Las plantas de tomate se pueden propagar por semilla (sexualmente), lavar, secar a la sombra y luego colocar en el congelador durante 24 horas para que germinen rápidamente y rompan la latencia, luego deje las semillas en una bandeja y cubra con papel periódico para mantener la humedad, (Villegas, 2009).

8.7.2 Propagación asexual

Esto se hace a través de cortes e injertos que finalmente se entierran en el centro; Se recomienda utilizar porta injertos de especies resistentes a nematodos y pudrición de raíces. La reproducción asexual da como resultado la transmisión de patógenos de la planta madre a su planta clonal. Es por ello que la planta de tomate es considerada un cultivo de bajo rendimiento, debido a la presencia de problemas fitosanitarios transmitidos a través de métodos tradicionales de mejoramiento, lo que lleva a la búsqueda de métodos más efectivos como el cultivo *in vitro*, (Salazar, 2020).

8.8 Situación del cultivo en el Ecuador

8.8.1 El cultivo de tomate de árbol en el Ecuador

Es considerado uno de los árboles frutales más rentables del Ecuador. Así determinó en un estudio realizado por la Universidad Católica de Cuenca en la región nororiental del Azuay. En Ecuador existen alrededor de 40 sitios de producción de tomate de árbol, con una superficie total cultivada de 260 mil hectáreas. Algunas variedades se cultivan (los expertos no las consideran variedades), como el anaranjado puntón, anaranjado redondo, tomate nacional, el amarillo nacional y partenocárpico. Tungurahua, Pichincha, Imbabura, Cotopaxi, Chimborazo, Azuay y Loja son las regiones del país donde el tomate es más popular debido al clima templado fresco. El Ecuador exportó alrededor de 5,1 toneladas métricas (Tm) de fruta fresca a Alemania, Canadá, España, Holanda, Italia y Japón, (El comercio, 2011).

8.8.2 Superficie cultivada

Según el tercer censo agropecuario nacional, el área de siembra de tomate de árbol solo es de 4062 hectáreas, mientras que el intercalado es de 785 hectáreas. La variedad más común es la tradicional anaranjada, la reciente introducción de tomate de color morado y pulpa rojiza, pero son menos sabrosos, (Martines, 2002).

En Ecuador las provincias donde se cultivan estas frutas son Carchi, Imbabura, Pichincha, Tungurahua, Chimborazo, Cañar, Azuay y Loja en total en el país se cultiva 14748 hectáreas y en la provincia de Imbabura 883 ha la provincia que más produce tomate de árbol en el país de tu es la provincia de Tungurahua son 8300 hectáreas, (Uquillas *et al.*, 2011).

8.8.3 Importancia Económica

Según Guanoluisa (2011), señala que el tomate de árbol es una fruta no estacional, es decir se puede cultivar todo el año. Según la empresa municipal de mercado de productores agrícolas San Pedro de Riobamba, los precios referenciales internos del tomate de árbol son representados en los siguientes cuadros:

Tabla 3: Estadística de precio en el mercado Nacional

TOMATE DE ARBOL (KG)	
Nivel de precios	2010
Mayoristas	\$ 2.32
Super mercados	\$ 2.22

Fuente: Guanoluisa (2011)

Elaborado por: Ramos y Rea (2022).

8.9 Composición nutricional

Los tomates de árbol son una buena fuente de vitaminas A, B6, C y E, son ricos en hierro y potasio. También bajo en calorías y rico en fibra. La porción de información nutricional comestible en 100g, (Cajal, 2016).

Tabla 4: Composición Nutricional del Tomate de Árbol

Componentes por cada 100g de tomate de árbol		
Componente nutricional	Contenido de 100g de pate comestible	Unidades
Acidez	1,93	g
Carbohidratos	10, 5	g
Fibras	1,70	g
Grasas	0,16	g
Calorías	48	g
Agua	87,9	g
Proteínas	2	g
Calcio	9	Mg
Fosforo	13	Mg
Magnesio	18	Mg
Hierro	9	Mg
Vitamina C	29	Mg
Vitamina E	20	Mg

Fuente: Cajal (2016).

Según Penelo (2018), estudios realizados por la Corporación Financiera Nacional (CFN), el tomate de árbol es de gran importancia en la medicina debido a su alto contenido vitamínico y cualidades nutricionales que incluyen propiedades para reducir el colesterol, su alto contenido

de fibra, vitaminas A, B, C y K, y su bajo contenido calórico. Rico en minerales, entre ellos: calcio, hierro y fósforo, y contiene altos niveles de proteína y caroteno. Además, fortalece el sistema inmunológico y la visión, además, actúa como antioxidante y por último es una buena fuente de pectina.

8.10 Problemas fitosanitarios

Existen los siguientes problemas fitosanitarios en el cultivo de *Solanum betaceum*: *Colletotrichum gloeosporioides*, *viriosis*, *Phytophthora infestans*, *Oidium sp.*, *Fusarium solani*, *Leptoglossus zonatus*, *Alternaria sp.*, *Fusarium oxysporum*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Aphis sp.*, *Meloidogyne incognita*, *Agrotis sp.*, *Phyllophaga sp.* (Revelo, 2017).

8.10.1 Antracnosis (*Collectrichum gloeosporioides*)

Una de las enfermedades más importantes de las plantas de tomate en el Ecuador es su gran propagación y extensión del daño tan grande que en ausencia de medidas de control se produce la pérdida total, todas las variedades se ven afectadas y susceptibles a la infección. Con esta enfermedad cuando llueve. La humedad relativa cuando es alta y la gravedad de la enfermedad, aumentan la incidencia y severidad, dificultando su control. Ataca frutos en todas las etapas de crecimiento, así como ramitas y hojas. En condiciones de alta humedad relativa y lluvia constante, el centro de la plaga es de color rosa a salmón, lo que corresponde a la formación de esporas de hongos, y los frutos se secan, momifican, pueden caer al suelo o permanecer intactos. Al adherirse a los árboles, la enfermedad se transmite por el viento y los insectos (Sotomayor *et al.*, 2017).

8.10.2 Medidas de combate para la antracnosis

Cultural: Realizar podas sanitarias, cosechas y destrucción de frutos todas las semanas. Cosecha todas las frutas maduras en el momento adecuado. La resistencia genética es un mecanismo esencial para un sistema integrado de manejo de plagas. Hay una adhesión conocida como *Cyphomandra Uneloba*, con una resistencia específica a este patógeno que ha comenzado un plan de mejora genética para desarrollar variedades de resistencia (Revelo *et al.*, 2008).

Química: Pulverizar fungicidas que contengan cobre, como Coprofix, a la dosis de 3 g/L, resultado a la dosis de 1 cm³/L, utilizando un ligante protector y alternante (Revelo *et al.*, 2008).

8.10.3 Paratrioza (*Paratrioza cockerelli*)

La paratrioza o pulgón saltador es un insecto chupador que se alimenta de la savia de la planta huésped. En Ecuador tiene alta incidencia en plantas de papa, tomate rojo y tomate de árbol. Los insectos adultos ponen alrededor de 500 huevos por desove. Después de tres a siete días, eclosionan y, a partir de ahí, el ciclo de vida pasa por cinco etapas larvales, todas de forma ovalada, antes de llegar a la edad adulta después de 12 a 24 días. Los insectos adultos cambian primero de color amarillo verdoso y alas blancas, luego alas translúcidas y cuerpo marrón oscuro a negro. Su tamaño medio es de 2,5 mm de largo y su ciclo de maduración puede alcanzar los 60 días cm³/l, con miembros de forma preventiva y alternativa, (AgriSolver, 2019).

Paratrioza prevención y control

Se puede realizar rotación contra la paratrioza, como tenemos las siguientes prácticas: Rotación de cultivos, Preparación oportuna del terreno, Limpieza y destrucción de residuos (Hora, 2022).

8.10.4 Que es la Biotecnología

La biotecnología vegetal (BV) es el conjunto de tecnologías utilizadas para mejorar las variedades vegetales según características de interés agrícola y ornamental. Esta línea de investigación incluye conocimientos en diversos campos científicos como la bioquímica, la ingeniería agrícola, la biología celular y la genética. Con su aplicación se pueden crear nuevos productos y modificar las propiedades de otros, además de aumentar la productividad, el tamaño y la resistencia a condiciones adversas como bacterias, virus, hongos, sequía, salinidad, frío y calor, (Gutiérrez, 2021).

8.10.5 Agrobiotecnología

Según Rocha (2011), afirma que la tecnología agrícola es una tecnología eficaz que consta de muchas tecnologías diferentes. Entre ellos se encuentran métodos de hibridación, cultivo de células y tejidos en laboratorio, fermentación y control biológico por microorganismos, algunos de los cuales no son organismos vivos. En este artículo, se describen brevemente algunos de ellos y conceptos que ayudan a aclarar la relación entre la transferencia de genes, una de muchas, y la tecnología agrícola.

El autor Rocha (2011), menciona que, en las técnicas utilizadas por la agricultura, la membresía o varias generalmente se identifica como una importante basada en la actividad o la presencia de sus organizaciones vivos o herramientas derivadas. De esta manera, la biotecnología utilizada en la agricultura se llama "biotecnología agrícola" o "tecnología agrícola", y los términos pueden usarse para un grupo de diferentes tecnologías (episodios. Procedimientos y recursos) pueden usarse para contribuir a algunas soluciones a algunas agriculturas problemas

Aplicaciones de la biotecnología en vegetales

8.10.6 Mejora de variedades en función de caracteres de interés agronómico:

Productividad (resistencia a estreses biológicos: plagas, virus y patógenos; tolerancia a estreses abióticos: sequía, salinidad, tolerancia a herbicidas, interacciones planta-suelo), absorción de nutrientes, mejora metabólica, etc.). Mejora de la nutrición: mejora de las vitaminas Mejor sabor Nutrición nutricional Fisiología postcosecha (fruta de maduración lenta) Grupo de procesamiento de alimentos IV Mejora de los bonsáis: estructura, tamaño, color, olor, ausencia de frutos Procesamiento de plantas: eliminación de contaminantes Biocombustible: cultivos bioenergéticos (1.º, 2.º y 3ª generación), Bio plantas: Agentes formadores de biopelículas, proteínas terapéuticas, plásticos biodegradables, etc., Mejora de la diversidad natural y protección de la biodiversidad, rendimiento, calidad, sostenibilidad, nuevas aplicaciones, (Díaz, 2020).

8.10.7 Cultivo de tejidos vegetales

Los autores Morales *et al.*, (2016), afirma que el cultivo de tejidos vegetales ofrece a partir del total potencialidad de las células de las plantas originar nuevos organismos en un medio de cultivo *in vitro* a través de Fito hormonas y factores de crecimiento que disminuyen el tiempo de maduración del organismo, obteniéndolo en un lapso menor al de su ciclo de vida silvestre. Las aplicaciones biotecnológicas en el aislamiento de metabolitos secundarios obtenidos por esta vía incluyen: la modificación genética, el estrés con factores físicos y/o químicos como los fotoperiodos, el estrés salino y la diferenciación hacia callo, brotes, raíces.

8.10.8 Cultivo *in vitro*

El cultivo en laboratorio asegura una buena disposición de las plantas medicinales utilizando el mínimo espacio y tiempo. Con él, se pueden realizar varios tipos de trasplantes de tejidos y órganos vegetales, tales como: cultivo celular, trasplante de plántulas y trasplante de raíces. El

cultivo de células vegetales es una alternativa atractiva al cultivo de plantas enteras como fuente de valiosos metabolitos secundarios. Las células vegetales son pluripotentes, lo que significa que cada célula durante el cultivo retiene toda la información genética y, por lo tanto, es capaz de producir la gama completa de compuestos químicos producidos por la planta madre, (Morales *et al.*, 2016).

8.11 Tipos de cultivos *in vitro*

8.11.1 Cultivos organizados: cultivo de órganos o fragmentos

Será el cultivo de semillas o fragmentos de órganos o tejidos. Los ejemplos de uso común incluyen trasplantes de meristemas apicales (principalmente el ápice del tallo), cultivos de nódulos, cigotos, así como segmentos de raíz con o sin ápice (Pelacho *et al.*, 2005).

8.11.2 Cultivos desorganizados

Pueden ser cultivos celulares de una o más células relacionadas, o incluso de orgánulos celulares diferentes. Ejemplos de cultivos de este tipo de "caos" son cultivos agregados de células indiferenciadas (llamados callos), ensamblajes de células (clusters), células individuales, redes microscópicas, fibroblastos y orgánulos, (Pelacho *et al.*, 2005).

8.11.3 Cultivo de meristemas

Los cultivos se infestan de plagas cada temporada de crecimiento. El cultivo de meristemas (MC) es un método de eliminación de virus para restaurar un alto rendimiento. El cultivo de tejidos apical también elimina hongos y bacterias. Las plantas cultivadas con tejido apical son genéticamente estables y pueden almacenarse durante mucho tiempo como material genético libre de virus. Un ejemplo de la importancia del CM es el cultivo de la fresa, ya que este debe hacerse con plantas clonales para asegurar una producción continua de frutos de calidad constante, de ahí que se establezca el proceso de propagación de la Fresas a partir de CM, (Cano & López , 2021).

8.11.4 Cultivo de segmentos nodales y ápices de vástago

Menciona (Cano & López , 2021), Demostró que la propagación vegetativa por esquejes requiere mucho tiempo y no es rentable para muchas especies. Por el contrario, las semillas de la descendencia suelen ser heterocigóticas y muestran variaciones genéticas indeseables en la

población. En estas condiciones, se utilizaron cultivos *in vitro* de segmentos ganglionares (CSN) y puntas de imágenes para inducir la ramificación como método de proliferación y clonación. En plantas ornamentales se ha reportado el uso de CSNs y regeneración *in vitro*. En plantas destinadas a la alimentación, cabe mencionar la reproducción *in vitro* del olivo (*Olea europaea L.*) y la estevia (*Stevia rebaudiana Bertoni*). Por ejemplo, en plantas medicinales, *Tinospora cordifolia* es una planta de importancia medicinal, de la que se puede obtener berberina utilizando CSN.

8.11.5 Propagación de plantas por cultivo *in vitro*

El término cultivo *in vitro* de plantas, significa cultivar plantas dentro de un recipiente de vidrio en un ambiente artificial. Este método para cultivar las plantas tiene dos características fundamentales: la esterilización (ausencia de gérmenes), y el control de los factores que afectan el crecimiento. El desarrollo alcanzado por las ciencias biológicas ha permitido en los últimos años el estudio exacto de las plantas tanto a nivel celular como molecular, y en condiciones de laboratorio es posible hoy por hoy, reproducir todos los factores que puedan influir en el desarrollo de las plantas. Este principio general se utiliza también al cultivo *in vitro* de plantas, (Castillo, 2018).

A principios del siglo pasado, el científico alemán Haberland se dio cuenta de que las plantas pueden crecer a partir de células aisladas, reforzando así la hipótesis de que las células pueden crecer en las plantas. Sin embargo, este científico no pudo probar de manera realista su hipótesis, debido a que la mayoría de los elementos que componen los medios de culturales vigentes, todavía no habían sido descubiertos. Sería recién en la década del 50 cuando se establece la importancia del balance hormonal en las plantas, con el descubrimiento de las hormonas vegetales más usadas en la actualidad, (Paidá, 1998).

8.12 Fases del cultivo *in vitro*

8.12.1 Protocolo de desinfección

La esterilización del material vegetal es uno de los pasos más importantes en el proceso de cultivo de tejidos. Durante este proceso, se realizan esfuerzos para eliminar los contaminantes microbianos de la superficie y dentro de la materia vegetal, lo que le da a la vacuna la oportunidad de sobrevivir en el laboratorio. El proceso debe ser eficiente en la eliminación de

contaminantes, con poco daño a las células de la planta. Los brotes vegetativos sirven como un buen material de partida (semilla) para cultivar plantas en el laboratorio, sin embargo, la sobreinfección con microorganismos, como bacterias y esporas de hongos que contienen ciertas yemas axilares, hace que el cultivo *in vitro* sea problemático. Este problema de la contaminación bacteriana a menudo se resuelve mediante la esterilización efectiva de la superficie del cultivo, entre otras técnicas de esterilización. Tradicionalmente, el método de desinfección utiliza una solución de hipoclorito de sodio, que suele ser una buena opción para limpiar telas. Sin embargo, este proceso depende de varios factores, incluido el origen de la planta madre, el cultivar y la composición genética, (Sánchez & Alvarenga, 2014).

8.13 Medios de cultivos

Las plantas extirpadas se cultivan en un recipiente lleno de medio de cultivo estéril que contiene nutrientes esenciales, carbohidratos y reguladores del crecimiento; Medios sólidos y líquidos, o combinados como medios bicapa. Otros compuestos que se agregan para un propósito específico son los aminoácidos, los compuestos orgánicos nitrogenados, los extractos de plantas, los antibióticos y otros. Los medios Murashige y Skoog (MS) se utilizan ampliamente en el cultivo de tejidos vegetales para muchas especies. Contiene sales mayoritarias (macronutrientes), sales secundarias (micronutrientes), vitaminas y compuestos orgánicos. El pH del medio es un factor esencial, que afecta tanto el crecimiento de las plantas como el desempeño de los reguladores de crecimiento de las plantas; Esto debe establecerse en un valor entre 5,4 y 5,8. Uno de los factores más importantes que conducen a dominar la técnica de cultivo de células, tejidos y órganos es la elección del medio de cultivo, ya que no existe una forma ideal de apoyar el crecimiento de cada muestra de tejido, (Sánchez & Alvarenga, 2014).

8.13.1 Medio de cultivo de Murashige y Skoog

En 1962 los investigadores Murashige y Skoog, desarrollaron un medio de cultivo en el que obtuvieron un crecimiento rápido de tejidos vegetales de planta de tabaco. Hoy en día, los componentes de este medio nutricional se utilizan con éxito en la mayoría de las especies vegetales. Desde 1970 se han desarrollado varios experimentos para estudiar su comportamiento en el estudio de la embriogénesis, organogénesis, hibridación, diferenciación, fitopatología, citología, mutación génesis, producción de metabolitos secundarios y finales en la modificación genética con ayuda de marcadores moleculares, (Yaguache & Armijos, 2010).

8.13.2 Medio de cultivo de Phytamax

Este medio de cultivo fue formulado para proporcionarnos lo siguientes para cultivos en crecimientos de los explantes, 825 mg de Nitrato de amonio, 3.1 mg Ácido Bórico, 166mg de Cloruro de calcio, 0.0125 de cloruro de Cobalto, 0.0125 de sulfato cúprico, 37,24mg Na₂ EDTA, 27.85 Sulfato Ferroso, 90,37 de Sulfato de magnesio, 8,4. El medio de cultivo Phytamax tiene una solución de 50% de una mezcla de ácido naftalenacético (ANA) y el 50% de benciladenina (BA), que son reguladores del crecimiento de las plantas, (Rodas, 2009).

8.13.3 Woody Plant Medium

Woody Plant Medium fue formulado originalmente en 1982 por Lloyd y McCown para el cultivo de brotes puntas de laurel de montaña (*Kalmia latifolia*). Desde entonces ha sido ampliamente utilizado para la propagar muchos tipos de plantas leñosas. La fórmula es una mezcla de nutritiva de sales inorgánicas, vitaminas, aminoácidos y carbohidratos. Las plantas leñosas de tamaño mediado Woody Plant Medium (WPM) proporcionan todos los macros y microelementos. El dihidrógeno de potasio actúa como fuente de fosfato mientras que el nitrato de calcio el nitrato proporciona nitrógeno a la planta. Los microelementos como el boro, el manganeso, el hierro, el molibdeno y el zinc juegan un papel fundamental en el metabolismo de las plantas. El boro desempeña un papel en el metabolismo de los carbohidratos. La tiamina, la piridoxina, y el ácido nicotínico generalmente actúan como cofactores enzimáticos. La vía incluye la glucólisis y el ciclo TCA, así como el metabolismo primario y secundario en las plantas. La glicina actúa como fuente de aminoácidos, (Plantigen, 2017).

8.14 Reguladores de crecimientos

Los reguladores de crecimiento vegetal más importantes son las auxinas y citoquininas, porque controlan la ramificación de los brotes, la formación y mantenimiento de los meristemas, la formación de raíces y otras funciones. En este sentido, el objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de los reguladores de crecimiento vegetal en la multiplicación y enraizamiento *in vitro* de *S. calvus*. Con este fin se evaluaron metodologías para la desinfección, multiplicación, enraizamiento y aclimatación, haciendo uso de reguladores de crecimiento vegetal, (Ibarra *et al.*, 2019).

8.14.1 6-Benzilaminopurine (BAP)

La 6-bencilaminopurina es un regulador del crecimiento vegetal de amplio espectro. Puede acelerar el crecimiento celular. Cuando se usa con giberelinas, se puede mejorar la forma de la fruta. La 6-bencilaminopurina estimula los siguientes efectos: división celular. Ramas laterales de emergencia (como manzanas, naranjas); la formación de brotes basales (rosas, orquídeas); floración (ciclamen, cactus); Frutas (uvas, naranjas, melones), (Studocu, 2021).

8.14.2 Ácido indol acético (AIA)

IAA es la principal auxina nativa de las plantas superiores. Los AIA están involucrados en el crecimiento y desarrollo de las plantas, principalmente en una variedad de procesos fisiológicos que incluyen elongación y división celular, diferenciación de tejidos, respuestas foto tróficas, de atracción y defensa, y destacan el importante papel en la formación de raíces y xilema, (Vega, 2016).

8.14.3 Ácido Giberélico (GA3)

Los resultados de los estudios muestran que el ácido Giberélico es un regulador de crecimiento de las plantas con el potencial de inducir nuevas ramas y promover el desarrollo de nuevas flores femeninas y frutos, (Pezo *et al.*, 2019).

8.15 Tipos de azúcares

8.15.1 Sacarosa

Menciona que la sacarosa es un disacárido producido por la condensación de glucosa y fructosa, y tiene la fórmula empírica $C_{12}H_{22}O_{11}$. Se ha demostrado que la sacarosa, por su estructura y configuración estereoquímica, La sacarosa tiene dos propiedades químicas principales: no es reductora y se hidroliza rápidamente. Se dice que la sacarosa no es reductora porque no reduce el cobre del líquido de Fehling o se equivalente, esto se debe a que los grupos reductores de los dos monosacáridos integrantes están unidos entre sí por enlaces glucosídicos. Por lo tanto, cual es una buena fuente de energía para las plantas, (Lema & Gonzales, 2021).

8.15.2 Glucosa

Según Nave Rod (2017), Afirmó que la plantas fabrican glucosa la producen las plantas usando la energía del sol, en un proceso llamado fotosíntesis. Esta síntesis ocurre en pequeños órganos

plantas de energía llamados cloroplastos en las hojas de las plantas. Los cloroplastos capturan la energía de la luz y fabrican moléculas de glucosa a partir del dióxido de carbono del aire y del agua del suelo.

8.15.3 Fructosa

La fructosa es un tipo de carbohidrato, que es un azúcar simple que se encuentra en la fruta. A menudo se le conoce simplemente como "azúcar de la fruta". La fructosa se llama azúcar simple o monosacárido porque es una de las unidades más pequeñas que exhiben las propiedades de estos carbohidratos, (Nave Rod, 2017).

8.16 Agente gelificante

8.16.1 Agar

Según Pérez (2017), afirma que el agar es un hidrocoloide natural extraído de varias especies de algas rojas, principalmente los tipos *Gelidium*, *Gracilaria* y *Pterocladia*. Este agar está libre de impurezas y se recomienda para la micropropagación comercial de especies de plantas ornamentales, suculentas y leñosas, así como para la ingeniería genética *in vitro* en el campo de investigación de plantas. Este agar tiene una resistencia de gel muy alta, = 1.000 g/cm², lo que permite su uso a concentraciones muy bajas, en aplicaciones típicas, que varían de 0,5 a 0,6% o concentraciones más altas cuando se usa con otros hidrocóloides. El producto es claro y muestra una excelente transparencia que ayuda a identificar la contaminación visual por bacterias o mohos que podrían interferir en el desarrollo de cultivos de plantas.

8.16.2 Según su estado físico

8.16.2.1 Estado líquido

El medio líquido más utilizado es el llamado caldo nutricional, que consiste principalmente en extractos de carne, peptona y agua. Se utiliza principalmente cuando se pretende obtener una suspensión bacteriana a una determinada concentración, (Santiago, 2015).

8.16.2.2 Estado Sólido

Santiago (2015), Recuerda que, se prepara a partir de un medio líquido, con la adición de un agente gelificante. Los más utilizados son la gelatina y la jalea. Gelatina: Proteína animal

obtenida de los huesos. Tiene un defecto en su descomposición por muchas bacterias y el uso es muy limitado porque el punto de fusión es bajo, las generaciones pueden usarse para diferentes fines, aunque lo más importante es: el entorno de gel comercial para la industria alimentaria, las bacterias, la edad pura y agarosis, utilizada para electricidad en gel 8.13.3
Vitaminas

Las vitaminas son un compuesto orgánico que cuando a la planta le hace falta vitaminas, se le proporciona un suplemento de dicha vitamina en los cultivos de tejidos vegetales, ya que es necesario que las plantas sean más fuertes y sanas posibles. Los tipos de vitaminas que se pueden encontrar en los tejidos vegetales son: Vitamina B12, biotina, ácido fólico, niacina, ácido pantoténico, vitamina C (ácido L-ascórbico), inositol, B1 tiamina, vitamina B2 riboflavina y vitamina B6 piridoxina, (Rivera & Montero, 2019).

8.17 Etapas de cultivo *in vitro*

Esta abarca una serie de etapas que se deben de llevar a cabo para la propagación *in vitro* que se puede aplicar a varias especies vegetales, y dependiendo de la especie se podrán aumentar o simplificar de acuerdo a las características de las plantas. Por ello tenemos las siguientes fases o etapas:

8.17.1 Fase 0: Preparación de la planta madre

Menciona Varela (2018), Hay que estar atentos antes de iniciar el cultivo de tejidos a la selección de la planta madre, y observar las siguientes características: seguidos sanas, vigorosidad y fuerza de estrés entre paréntesis es decir libre de beneficencia de enfermedades por hongos o virus) coma para poder obtener inóculos de buena calidad. Seguido de las que se obtendrán cultivos libres de contaminación y por ser una etapa esencial para los trabajos de micropropagación.

8.17.2 Fase 1: desinfección del material

Después de seleccionar el donante, se extraen las plantas extirpadas, que pueden ser semillas, partes de hojas, partes de hojas, raíces y brotes. Luego, las partes de la planta madre deben desinfectarse para eliminar los contaminantes externos. Los contaminantes externos más comunes suelen ser las bacterias y los hongos que se encuentran en el medio ambiente. Después de esterilización el material vegetal, debemos mantener las condiciones de esterilidad. Para

mantener las condiciones libres de gérmenes, debemos permanecer en una cámara de flujo laminar. Para la desinfección con hipoclorito de sodio, alcohol al 70% y agua estéril, se recomienda colocarlo en un recipiente de vidrio, (Lema & Gonzales, 2021).

8.17.3 Fase 2: Introducción de material *In-vitro*

Luego de la desinfección superficial cómo se me las semillas son las yemas desprendiendo del material seleccionado se ponen en medio de cultivo estéril. En el período de una semana o 15 días, comienza el proceso de germinación o regeneración de nuevos tejidos vegetales iniciando el ciclo del cultivo *in vitro*, (Torres, 2013).

8.17.4 Fase 3: Multiplicación

Durante esta etapa, las exhibiciones que estuvieron presentes durante las primeras etapas del brote (aparte de las axilas activas de Adventia) deben ir acompañadas de varios elementos. Se desarrolla un color amarillo en la base de cada hoja después de colocarla en el centro de la planta. Estos nuevos brotes deben polinizarse periódicamente en medios frescos dividiéndolos y almacenándolos en tubos de cultivo u otros recipientes adecuados. Estos procesos se realizan en bolsas de flujo laminar o en una ubicación remota, lo que nos permite mantener condiciones estériles. De esta forma el número árboles aumenta con cada división o división. El número de plantas obtenidas depende del tipo de planta y del estado del medio de cultivo. El número de plantas obtenidas al microscopio, (Torres, 2013).

8.17.5 Fase 4: Enraizamiento

Según Torres (2013), menciona que, para enraizar los explantes se utilizaron plántulas individuales de unos 2 cm de tamaño. Los brotes obtenidos durante la etapa de multiplicación se transfirieron a un medio que no contenía reguladores de crecimiento o que contenía solo hormonas de tipo auxina. Algunas especies de plantas no necesitan pasar por esta etapa y desarrollan sus raíces en el mismo cultivo que los nuevos brotes, por lo que la reproducción y enraizamiento se dan simultáneamente.

8.17.6 Fase 5: Aclimatación

Se debe tener cuidado al momento de transferir las plántulas a un medio fuera del laboratorio, de lo contrario se producirán pérdidas importantes. Dado que los brotes crecen se desarrollan en condiciones de alta humedad y baja intensidad de luz, las hojas de las plántulas en estas

condiciones contienen menos cera que las que crecen en un invernadero o vivero, por lo que se secan rápidamente cuando se combinan con condiciones al aire libre. Las plantas solo tardan unos algunos días en producir su propia fuente de carbono, porque cuando se cultivan en el laboratorio, se complementan con sacarosa y se mantienen con poca luz, como por lo que no dependen completamente de la fotosíntesis (Varela, 2018).

8.18 Proyectos de investigación realizada

Menciona Borrero (2007), informó que se usaron 5 frutos de cada variedad, y se encontró que una combinación particular de hormonas no se podía unir a cultivar una variedad específica, para formar callo y causar cicatrización y rejuveneciendo de la planta. Usando el software estadístico Statview, se calculó un ANOVA y fue posible determinar la concentración específica de auxina ANA (0,07 ppm) para asegurar la formación exitosa de callos y la regeneración del tallo a partir de muestras de todos los cultivares. Por otro lado, no fue posible determinar la concentración específica de citoquinina BAP sobre la formación de callos y el crecimiento del cabello. Aunque el uso de auxina ANA en una concentración de 0,07 ppm y citoquinina BAP en concentraciones de 3 o 4 μM aseguró la formación de callos y la regeneración exitosa de savia para los cinco cultivares, el uso de plantas amarillas y negras tiene una de las tasas más altas de callos y brotes renovación.

Los autores Cerda *et al.*, (2014), determinan que la esterilización con $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ al 2,5% era mejor para la incorporación *in vitro*; El mejor medio de cultivo para la micropropagación de material fue el M1, compuesto por 100% de sal MS (1962), 3% de sacarosa 1,8g/L de Vitagel, 0,5mg/L de AG3, 0,25mg/L de BAP y 2,0 mg/L de PaCa, que muestra el mejor balance entre el número de yemas promedio y número de entrenudos/explante, sin excesivos callos, mientras que el medio de cultivo E5, que consistió en 100% de sales MS (1962), 6,0g/L de agar y 3% de sacarosa, sin reguladores del crecimiento y el medio de cultivo E6, que incluye 100%, de sal MS, 8,0g/L de agar 3% de sacarosa, sin reguladores de crecimiento, mostro el menor tiempo de formación de raíces, el mayor número medio de raíces y la mayor longitud promedio de raíces y tallos.

Asimismo, el autor Yaguache (2009), informo que, para la preservación, se cultivaron segmentos nodales de plántulas geminadas *in vitro* de 3 meses de edad que miden 1,5 cm con dos yemas axilares cultivadas en medio MS utilizando medios MS. Utilizando diferentes

concentraciones de la formulación (100% 50%, 25%, 12,5%) y manteniéndolas durante 12 horas luz, la temperatura promedio fue de 21 °C y la humedad relativa de 60%. Como resultado la preservación del tejido se observó un crecimiento radicular reducido: MS 12,5% con 2,40 cm y 5% MS con 4,80 cm por planta a los 180 días, de igual forma la concentración de 5% MS mostró una media de 4 hojas por frasco y 1 hoja por planta. En cuanto al crecimiento y número de brotes, los mejores resultados se presentaron en el 5% de las finales con un promedio de 3,6 brotes y una altura de 0,9 cm de altura.

Mientras la autora Salazar (2020), menciona los siguiente, al evaluar los tratamientos pregerminativos, el tratamiento PG3 (incubación por 24 horas) logro los mejores resultados, a los 12 días hasta la emisión de la radícula y 100% de germinación; para evaluar el botánico, de explante, axilares lograron una tasa de respuesta genética 100 %, mayor en comparación con el 50% de semillas. En cuanto al medio de cultivo durante la fase de mejoramiento, se obtuvieron dos estados físicos (semisólido y binario) con 100% de germinación, sin embargo, utilizando medio semisólido se obtuvo color óptimo y máximo el mayor número de hojas; ANA a 0,5 ppm produjo el mayor número de hojas. Al evaluar la interacción de las condiciones de cultivo y las concentraciones de ANA, se encontró que M1C2 (semisólido, 0,5 ppm de ANA) fue la mezcla que produjo el mayor número de hojas (2) y M1C3 (semisólido, 1 ppm ANA) logro una coloración óptima (5/5), las interacciones M1C1 y M1C2 produjeron el mayor índice de proliferación para la floración *in vitro* que *Solanum betaceum*.

Los resultados mostraron que el mejor tratamiento fue S2D1M2 para semillas y E1D1M2 para explantes. Las variables de respuesta se evaluaron durante un periodo de 4 a 60 días de prueba, sin embargo, los mejores resultados se obtuvieron después de 60 días de observación, con obteniendo una tasa de germinación del 92 % y una tasa de contaminación del 48, % para el tratamiento S2D1M2. El crecimiento de la siembra se evaluó, mediante la altura de plantación, la formación de hojas verdaderas, el número de brotes y la formación de raíces. Diferentes valores de altura: 3.35 cm. (S2D1M2) y 11 cm. (E1D1M2), el numero promedio de hojas idénticas fue promedió de hojas idénticas fue de 11,5 en semillas, 2,0 en plantas vegetativas y 1,5 tallos. Mientras que, para el número de raíces, el promedio es de 3,3; Todos estos valores son al final de la observación (60 días). Este estudio proporciona información relevante para determinar los mejores medios de cultivo y condiciones para el crecimiento de plántulas *in vitro*, así como evidencia de la influencia del peso de las hormonas vegetales en el crecimiento de los árboles, (Nuñez, 2021).

9. PREGUNTAS CIENTÍFICAS O HIPÓTESIS

Ho: La utilización de explantes apicales no tiene efecto en la propagación *in vitro* de tomate de árbol (*solanum betaceum*).

Ha: La utilización de explantes apicales tiene efecto en la propagación *in vitro* de tomate de árbol (*solanum betaceum*).

10. METODOLOGÍA

10.1 Localización y duración

La presente investigación se desarrolló en el laboratorio de biotecnología “VITRO PLANTAS”, que se encuentra ubicado en el Cantón Cevallos de la provincia de Tungurahua, dicha investigación tendrá una duración de 5 meses.

10.2 Condiciones agro-meteorológicas

En la **tabla 5** se detalló las condiciones agro-meteorológicas del Cantón Cevallos.

Tabla 5: Condiciones agro meteorológicas del cantón Cevallos.

Parámetros	Promedios
Altitud m.s.n.m	2855
Temperatura máxima °C	18
Temperatura mínima °C	12
Temperatura media anual °C	12.85
Precipitación mm/año	250 a 500
Precipitación media mm/año	442.4
Heliofanía hora/luz/año	771
Humedad relativa %	75.8

Fuente: Yaguache, Á (2010).

En la **tabla 6** se presenta las condiciones ambientales controladas dentro del laboratorio. Según Castillo, (2004), en donde se recomienda que las condiciones de laboratorio que beneficia al explante en el proceso de la propagación *in vitro* por cualquier organos vegetativo.

Al momento de ubicar los frascos que contiene los explantes en la camara de crecimiento debe tener una estanteria con luz artificial, donde se fija la temperatura entre los 21 y 23°C y por otro lado debe controlarse la cantidad de luz para el crecimiento de los brotes.

Tabla 6: Condiciones controladas en el laboratorio.

Parámetros	Promedios
Temperatura	17°C – 27°C
Humedad relativa	60% - 70%
Luminosidad	505µmoles/m2/s
Fotoperiodo	16/8 h

Fuente: Castillo (2004)

Elaborado por: Ramos y Rea (2022).

10.3 Materiales y equipos

Los materiales y equipos que se utilizó para la micropropagación del cultivo de tomate fueron esterilizados antes del uso en el laboratorio, se detalla a continuación en la **tabla 7**.

Tabla 7: Materiales y equipos.

Materiales	Unidad	Cant.	Equipos	Unidad	Cant.
Mechero	Unidad	1	Plancha de calentamiento	Hr	1
Vasos de precipitación	Unidad	2	Cabina de flujo laminar	Hr	6
Frasco de vidrio	Unidad	20	Autoclave	Hr	1
Probeta	Unidad	1	Balanza analítica	Hr	1
Pinzas	Unidad	1	Agitador magnético	Hr	1
Tubos de ensayo	Unidad	2	pH- metro	Hr	1
Caja de bisturí	Unidad	1	Microondas	Hr	1
Sales minerales (M.S)	Kq	1			
Mascarillas	Unidad	5			
Agua destilada	Gl	1			
Mandil	Unidad	2			
Alcohol	Gl	1			
Paquete de servilletas	Unidad	3			
Agar	Gl	1			
Hipoclorito de sodio	L	1			
Regulador de crecimiento (AIA, BAP.)	L	2			
Semilla	Unidad	1			

Elaborado por: Ramos y Rea (2022).

10.4 Medio de cultivo

En la **Tabla 8** se muestra el medio de cultivo utilizado en la fase de establecimiento *in vitro*, para la germinación de las semillas de tomate de árbol.

Tabla 8: Medio de cultivo y reguladores de crecimiento para un litro de solución, establecimiento.

Factores de estudio	Cantidades	Unidades
M.S	2,5	g/l
Sacarosa (SC)	20	g/l
ANA	0,25	mg/l
GA3	0,25	mg/l
Ph	5,7	-
Agar	6,8	gr/l

Elaborado por: Ramos y Rea (2022).

En la **Tabla 9** se muestra el medio de cultivo utilizado en la fase de multiplicación in vitro, en el cual se colocaron los explantes apicales de tomate de árbol.

Tabla 9: Medio de cultivo y reguladores de crecimiento para un litro de solución multiplicación.

Factores de estudios	Cantidades	Unidades
Murashige y skoog (MS)	2,5	G
Sacarosa (SC):	20	g/l
Acido indo acético (AIA)	0,25	ml
Bencilaminopurina (BAP)	1,0	mg/l
Ácido Giberélico (GA3)	0,25	mg/l
Agar:	6,8	g/l
Ph:	5,7	-

Elaborado por: Ramos y Rea (2022).

10.5 Tratamiento de estudio

Para establecer los diferentes tratamientos de estudio se utilizó sales de Murashige & Skoog más combinaciones de hormonas en sus concentraciones específicas como se muestra en la **Tabla 10**.

Tabla 10: tratamientos de la investigación.

#	Tratamiento	Código
1	MS + AIA (0.25 mg/L) + BAP (1mg/L)	MS+AIA+BAP
2	MS + BAP (1mg/L)	MS+BAP
3	MS + BAP (1mg/L) + GA3 (0.25mg/L)	MS+BAP+GA3
4	MS (TESTIGO)	MS

Elaborado por: Rea y Ramos (2022).

10.6 Diseño experimental

El diseño experimental que se utilizó fue un Diseño completamente al azar (DCA), con cuatro tratamientos y diez repeticiones. Además, se manejó la prueba de rangos múltiples de Tukey al 5% de probabilidad, utilizando un programa estadístico del Infostat.

Tabla11: Esquema de análisis de varianza

Fuente de Variación	Grados de Libertad	
Tratamientos	(t-1)	3
Repeticiones	(r-1)	9
Error experimental	(r-1) (t-1)	27
Total	(r.t-1)	39

Elaborado por: Ramos y Rea (2022).

10.7 Esquema del experimento

Se presenta un esquema de experimentos donde hay tratamientos con diferentes tipos de hormonas, repeticiones, unidades experimentales con un total de 200 plántulas como se detalla a continuación en la **tabla 12**.

Tabla12: Esquema de tratamientos.

Trat.	Descripción	Rep.	U. E.	Total
T1	MS+AIA 0.25mg/L + BAP 1mg/L	10	5	50
T2	MS + BAP 1mg/L	10	5	50
T3	MS+BAP(1mg/L)+GA3(0.25mg/L)	10	5	50
T4	MS (TESTIGO)	10	5	50
Total.			200	

Elaborado por: Rea y Ramos (2022).

10.8 Manejo del ensayo

10.8.1 Estratificación de semillas

Las semillas fueron seleccionadas de los árboles frutales de la zona con características fenológicas, las semillas fueron introducidas por 24 horas en refrigeración a una temperatura de 6 C te, utilizando el ácido Giberélico.

10.8.2 Desinfección de la semilla

Para iniciar la semilla se sometió a una desinfección con alcohol etílico al 70 % más agua destilada al 30 % durante 5 min con agitación continua en tres envases diferentes, luego se procedió a la desinfección sumergiendo las semillas en una solución de hipoclorito de sodio al 70 % mas 30 % de agua destilada esterilizada durante 10 minuto, con agitación firmemente siguiendo el protocolo de esterilización, agitar por los tres envases adicionales, durante este lapso de tiempo.

Enseguida se procedió al lavado de la semilla con agua destilada esterilizada por tres veces consecutivas con lapso de tiempo de 5-7-10 minutos para eliminar residuos de las soluciones que se utilizaron; la desinfección y el lavado o enjuagué se realizó en la cámara de flujo laminar,

antes de realizar cualquier proceso *in vitro*, se procedió a una desinfección total de la cámara de flujo laminar con una solución de alcohol al 70%, luego realizó el secado paño desechable.

10.8.3 Preparación de medio de cultivo para establecimiento *in vitro*

Primeramente, se realizó el preparado del medio de cultivo que consistió en una solución de agua + agar en 6.8 gr/l, MS 2.5 gr/l, sacarosa (SC) 20 gr/l, ANA 0,25 mg/l, GA3 0,25 mg/l y un Ph de 5.7 Para lograr que el agar quede disuelto uniformemente se utilizó el microondas por un tiempo de 3 minutos, posteriormente el agar se ubicó en los recipientes de vidrio en un volumen 25 ml por frasco, los cuales fueron llevados a la autoclave eléctrica a ser esterilizados a una presión de 103kPa y a una temperatura 121 °C durante 1 hora.

10.8.3 Siembra del explante (semilla)

Una vez finalizada la desinfección y la preparación del medio de cultivo de agar + MS + SC + ANA+ GA3, se colocan las semillas en el frasco en el medio de cultivo dentro de una cámara de flujo laminar, para llevar a la introducción de la semilla en los frascos se utilizó una pinza para disección completamente desinfectada. Utilizando en una lámpara de alcohol para así evitar la contaminación de las semillas, donde se sembraron 30 semillas en cada recipiente de cultivo, luego se procedió a sellar con plástico film para reducir la tasa del porcentaje de contaminación del explante, se realiza a poner un rotulo con la fecha de siembra.

Al finalizar la introducción de explante se realizó el traslado de los frascos con semilla introducida al cuarto de crecimiento, donde fue expuesto a una iluminación artificial con una temperatura de 17°C a 27°C y a un fotoperiodo de 16 horas de luz y 8 hora de oscuridad durante un periodo de 30 días, una vez conseguidos las plántulas necesarias, se dio inicio la etapa de multiplicación a partir de meristemo apical.

10.8.4 Etapa de multiplicación

La multiplicación apical de tomate de árbol se realizó en los diferentes tratamientos planteados en el estudio, donde se escogieron los meristemos apicales de la plántula que estaban mejores desarrollada dentro de la solución de agar que no se contaminaron en la etapa de siembra del explante (semilla).

Los explantes obtenidos de la plántula se trasladaron a una solución como medio de multiplicación con sus diferentes tipos de reguladores de crecimiento. Dentro de esta etapa de

multiplicación se evaluaron los 4 tratamientos de las siguientes concentraciones de 2.5g/l de MS como también los reguladores de crecimientos como es la: Bencil amina purina (BAP) a 1,0 mg/l, ácido indolacético (AIA) 0,25 mg/l y ácido Giberélico (GA3) 0,25 mg/l.

Dentro de esta unidad experimental, se elaboró las preparaciones de los medios de tratamientos en los frascos de vidrio, lo cual, fue introducido en la autoclave, luego se realizó la introducción a los frascos 5 explantes, provenientes de la plántula obtenidas del proceso de germinación.

Durante esta etapa de multiplicación se observaron y se registraron los datos de las siguientes variables de estudios: porcentaje de contaminación, porcentaje de sobrevivencia, longitud de brote, número de hojas por explantes, presencia de callo, largo de la raíz y número de raíz.

10.9 Variables evaluadas

10.9.1 Porcentaje de contaminación

En esta variable se evaluó el porcentaje de contaminación de 200 explante (semillas) que se introdujo al medio de agar, mediante la siguiente formula:

$$\% \text{ de contaminación} = \frac{\text{Brotes contaminados}}{\text{Total de brotes}} * 100$$

Como contaminación se tomó en cuenta a los explantes con síntomas de hongos, bacterias, oxidación o levaduras.

10.9.2 Porcentaje de sobrevivencia

En esta variable, se evalúa el porcentaje de sobrevivencia de 50 explantes apicales por tratamiento.

$$\% \text{ de sobrevivencia} = \frac{\text{explantes muertos}}{\text{Total de explantes}} * 100$$

10.9.3 Longitud de brote (cm)

Se registró las medidas con una regla en cm, tomada desde la base de raíz hasta la región de ápice de cada explante.

10.9.4 Número de hoja por explante

En esta variable se procedió a contabilizar los números de hojas producidos por cada explante apical, que se introdujo en los medios de cultivo. Donde se sumó todas las hojas completamente desarrolladas.

10.9.5 Porcentaje de callo

Se procedió a visualizar si existió o no la presencia de callos en los cuatros tratamientos de las diez repeticiones, se observó detenidamente en la parte de la raíz con la ayuda de una linterna.

10.9.6 Largo de raíz (cm)

El método que se utilizó para evaluar esta variable fue medir desde la base del tallo hasta el extremo de la raíz con ayuda de una regla numérica en cm.

10.9.7 Número de raíz por explante

Se procedió a contabilizar el número de raíces por cada explante apical, de una unidad experimental de los cuatros tratamiento.

11 RESULTADO Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

11.1 Porcentaje de contaminación

En la variable evaluada del porcentaje de contaminación a los 21 días presentaron una contaminación del 60% como se muestra en el gráfico 1. Esto se debe al mal manejo fitosanitario, al ingresar o sembrar los explantes al medio de cultivo, también se dio una alta contaminación por ser una semilla no certificada, nuestro dato de contaminación fue elevado en relación a Nuñez (2021), quien menciona que se necesita semillas certificadas para disminuir

la tasa de contaminación al momento de la germinación, en la Semillas con el método de desinfección 1 donde se utiliza etanol, NaClO, lavado con agua estéril se obtuvo menos porcentaje de contaminación 4,52% en comparación con el método de desinfección 2 utilizando etanol, HgCl₂, lavado con agua estéril, en el que se presentó valores de contaminación más altos 10, 62% con los siguientes tratamientos M1 (ANA 0.2 mg/l+ BAP 0.2 mg/l+ GA3 0.2 mg/l).

Gráfico 1: Porcentaje de contaminación



Elaborado por: Ramos y Rea (2022)

11.2 Porcentaje de sobrevivencia

En la **tabla 13** se muestra los porcentajes de sobrevivencia, en el que no se evidencia diferencias estadísticas, dicho estudio realizado demostró que el tratamiento T4 MS (sin hormonas) tiene el mejor porcentaje de sobrevivencia con un 98% en comparación al tratamiento T2 (MS+BAP (0.25mg/l) con un porcentaje de 76% siendo el rango más bajo en los 4 tratamiento. Estos resultados nos dan a entender que el T4 en el que no se utiliza ningún tipo de hormona, tiene una mejor respuesta en la sobrevivencia debido a que contiene macro y micro nutrientes entre los más necesario, que son los N, F, P por el contrario, al combinar hormonas la tasa de sobrevivencia se ve disminuida, por una saturación de hormonas.

Tabla 13: porcentaje de sobrevivencia

Tratamientos		% por cada tratamiento.
T1	MS+AIA(0.25mg/l)+BAP(1mg/l)	96 a
T2	MS+BAP(1mg/l)	76 a
T3	MS+BAP(1mg/l)+AG3(0.25mg/l)	88 a
T4	MS	98 a
Cv		25.40

Elaborado por: Ramos y Rea (2022).

Similares datos reportan Nuñez (2021), quien obtuvo un porcentaje de 96% de sobrevivencia esto se debió al buen manejo de desinfección, en el manejo *in vitro* del cultivo de tomate de árbol, utilizando AIA 1,0 mg/L+BAP 3,0 mg/L.

11.3 Longitud de brote (cm)

En la **Tabla 14** se muestra los valores promedios de la variable longitud de brote, en el que se puede evidenciar que existe diferencias estadísticas significativas, ubicándose con mejores promedios (3,45 cm) al T4 en el que no se utilizó ninguna hormona. En segundo rango se ubican los tratamientos T1 y T3 en el que se combina Bencilaminopurina con Ácido indol acético y ácido Giberélico respectivamente. Finalmente, el tratamiento que menor respuesta en longitud de brote es el T2 en el que se utilizó Bencilaminopurina con promedio de 2,32 cm.

Tabla 14: Resultado de longitud de los brotes (LB) durante los 21 días.

Tratamientos	Longitud de brotes
T1 MS+AIA 0.25mg/L + BAP 1mg/L	2,6 ab
T2 MS + BAP 1mg/L	2,32 b
T3 MS+BAP(1mg/L) + GA3(0.25mg/L)	2,77 ab
T4 testigo (MS)	3,45 a
Cv	31,4

Elaborado por: Ramos y Rea (2022).

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

En los datos obtenidos por Criollo *et al.*, (2016) en longitud de brote, se puede observar que sus promedios fueron menores con 2,33 cm en el tratamiento (MS al 100% suplementado con 8,0 g/L de agar y 3% de sacarosa), donde al igual que nuestro mejor tratamiento no se utilizó ningún tipo de hormonas; por otro lado Vilchez *et al.*, (2014), indica que el Woody Plant Médium (WPM) da mejores resultados en la longitud de brote con 11cm mientras que el Murashige y Skoog por su alto contenido de sales tiene menor resultado en su longitud de brote de 6.30 cm, y es empleado para plantas leñosas o sensibles a la sanidad.

11.4 Número de hojas por explante

En la variable número de hojas por explante se puede observar que no existe diferencia estadística significativa, sin embargo se puede notar que el medio de cultivo MS+BAP(1mg/L) en combinación con GA3(0.25mg/L) utilizada en el tratamiento (T3) se puede observar que dio un mayor número de hojas por explante (2,4), mientras el tratamiento dos (T2) con el medio de cultivo MS + BAP 1mg/L, fue el tratamiento con menor promedio con 1,2 hojas por explante.

Tabla 15: Resultado de numero de hojas por explantes los durante los 21 días.

Tratamientos	Número de hojas por explantes
T1 MS+AIA 0.25mg/L + BAP 1mg/L	2,2 a
T2 MS + BAP 1mg/L	1,2 a
T3 MS+BAP(1mg/L) + GA3(0.25mg/L)	2,4 a
T4 testigo	2 a
Cv	60,19

Elaborando por: Ramos y Rea (2022). Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Según Pazmiño (2017), menciona que el mayor número de hojas fue de 3,17 en el tratamiento con Benciladenina en dosis de 30 mg/l, mientras que el promedio más bajo se registró al utilizar la fitohormona (Kinetina x 10 mg) con un promedio de 1,67 hojas. Por otro lado, la autora Salazar (2020), también menciona que el mayor promedio de número de hojas (2,3) presentados en el tratamiento pregerminativos PG3, utilizando Murashige & Skoog en combinación con ácido indolacético.

11.5 Porcentaje de callo

En la variable porcentaje de callo se puede evidenciar que el tratamiento T4 en el que no se utiliza hormonas se aprecia una baja formación de callo organogénico de 20%, esto se ve reflejado en una mejor respuesta en las demás variables evaluadas. Por el contrario, el tratamiento T1 y T3 en el que se utilizaron hormonas como ácido indolacético (AIA), Bencilaminopurina (BAP) y ácido Giberélico (GA3) tienen mayor porcentaje 90% de presencia de callo debido que estas hormonas estimulan a la formación de callos como se detalla en la **tabla 16**.

Tabla 16: presencia de callo

Tratamientos		% por cada tratamiento.
T1	MS+AIA(0.25mg/l)+BAP(1mg/l)	90 b
T2	MS+BAP(1mg/l)	40 a
T3	MS+BAP(1mg/l)+AG3(0.25mg/l)	90 b
T4	MS	20 a
CV		66.90

Elaborado por: Ramos y Rea (2022).

Según Cardenas *et al.*, (2016), afirma que la multiplicación de microtallos fue exitosa en medio con 2% de sacarosa suplementado con 0,02 mg L⁻¹ de Acidonaftalenacetico (ANA) y de Bencilaninapurina (BA); donde el 3% formó callo. Por otro lado, estos autores tienen resultados similares a nuestra investigación como menciona Cabrera, (2010) donde se obtuvo un 70 % de presencia de callo, mientras que el 30 % no se obtuvo presencia de callos. Los resultados mostraron en la utilización de medio MS suplementado con 5 mg/L de ANA y 90 g/L de sacarosa.

11.6 Largo de la raíz (cm)

En la **tabla 17** donde se muestra el resultado del largo de la raíz en que se puede observar diferencias estadísticas significativas desatacando al mejor tratamiento (T4) con el medio de cultivo MS sin hormonas tuvo el mejor promedio 1,82cm en largo de la raíz, similar al promedio tenemos el (T3) que está en el segundo rango con promedio con 1.37 cm, en la

utilización de hormonas Bencilaminopurina y ácido Giberélico, donde se puede evidenciar que la utilización de hormonas actúan en forma negativa en cuanto al largo de la raíz.

Tabla 17: Resultado de largo de la raíz por explantes los durante los 21 días.

Tratamientos	Largo de la raíz (cm)
T1 MS+AIA 0.25mg/L + BAP 1mg/L	0,85 bc
T2 MS + BAP 1mg/L	0,41 c
T3 MS+BAP(1mg/L) + GA3(0.25mg/L)	1,37 ab
T4 testigo	1,82 a
Cv	65,36

Elaborado por: Ramos y Rea (2022).

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Los autores Cerda *et al.*, (2014), obtuvieron similares resultados al utilizar medios de cultivos sin hormonas E5 (MS al 100% suplementado con 6,0 g/L de agar y 3% de sacarosa) los cuales mostraron en los periodos de enraizamiento más cortos, el mayor número promedio de 3,23cm largo de la raíz. Mientras que los autores Garcia & Estévez (2019), por lo contrario mencional que el medio de cultivo utilizando 0.50 mgL⁻¹ de BAP en la variable, largo de raíz la mejor respuesta se presentó en la concentración de 0,15 mgL⁻¹ para el bionensayo uno.

11.7 Número de raíz por explante

Los resultados obtenidos según la **tabla 18** donde muestra la variable número de raíz por explante en el que se destaca el tratamiento T4 en el que se utiliza medio de cultivo MS sin hormonas con promedio de 4,2 raíces por explante, mientras que la utilización de los reguladores de crecimiento como Acido indol acético (AIA), Bencilaminopurina (BAP) y Ácido Giberélico (GA3) obtuvieron el segundo rango. Quedando como evidencia en las variables como número y longitud de brote, largo y número de raíz por explante los mejores tratamientos fueron los que no se utilizaron hormonas.

Tabla 18: Resultado de largo de la raíz por explantes los durante los 21 días.

Tratamientos	Número de raíz por explante
T1 MS+AIA 0.25mg/L + BAP 1mg/L	1,9 b
T2 MS + BAP 1mg/L	0,9 b
T3 MS+BAP(0.25mg/L) + GA3(0.25mg/L)	1,5 b
T4 testigo	4,2 a
Cv	56,5

Elaborado por: Ramos y rea (2022). Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Por otro lado, Cabrera *et al.*, (2010), coincide con el resultado obtenido que el mejor tratamiento es el MS sin hormonas, menciona que los cultivados en MS basal con 3 % de sacarosa germinaron rápidamente, a los 8 días de subcultivo se observó la brotación de la radícula de 3.05cm. Los autores mencionados anteriormente Cerda *et al.*, (2014), vuelven a manifestarse con respecto a los tratamientos sin reguladores de crecimiento, donde el tipo de gelificante presentó un papel importante, mostrando diferencias significativas en la mayoría de las variables evaluadas, siendo los tratamientos E6 (MS al 100% suplementado con 8,0 g/L de agar y 3% de sacarosa), los que revelaron los mejores resultados 3,72 números de raíces por explante.

11.8 Análisis de costo

Para el análisis de costos de cada uno de los tratamientos se logró demostrar el precio más alto de 56,18 USD en el tratamiento T1 en el que se utiliza las hormonas AIA (0,25 mg/l) + BAP (1mg/l), por el contrario, el tratamiento 4 donde se utilizó solo MS fue el más económico de 47,68 USD.

Tabla19: Análisis de costos de la investigación realizada.

	T1	T2	T3	T4
Costos	MS+AIA 0.25mg/L + BAP 1mg/L	MS + BAP 1mg/L	MS+BAP (1 mg/L) + GA3(0.25mg/ L)	Testigo MS
Semillas	0,18	0,18	0,18	0,18
Insumos de laboratorio	7,00	7,00	7,00	7,00
Alquiler de quipos y materiales	37,00	37,00	37,00	37,00
Medios de cultivo				
Ácido indolacético	4,50			
Bencilaminopurina	4,00	4,00	4,00	
Murashige & skoog	3,50	3,50	3,50	3,50
Ácido Giberélico			3,20	
Total costos USD	56,18	51,68	54,88	47,68

Elaborado por: Ramos y Rea (2022).

12. IMPACTOS (TECNICOS, SOCIALES Y AMBIENTALES).

12.1 Técnico

La investigación realizada a generado un impacto técnico, con una gran importancia tanto tecnológico como en el campo de la agronomía, debido a que presentamos manejos y herramientas, para mejorar resultados en la propagación *in vitro* de tomate de árbol (*Solanum betaceum*) llegando a crear una alternativa para la agricultura tradicional, creando plantas libres de plagas y enfermedades, tanto, así como de agentes que perjudiquen la calidad.

12.2 Social

En cuanto al impacto social que tiene este proyecto es extremadamente importante, ya que en la actualidad para poder comercializar plantas con buena genética y lo mejor es que se puede obtener de una manera masiva plántulas en poco tiempo que estas estén en las expectativas de producción que los agricultores desean, ya que con utilización de la micro propagación o cultivo *in vitro*, se puede obtener plántulas con características deseadas a los que llamaremos clones.

12.3 Ambiental

En lo ambiental nos generó un importante impacto al usar la técnica de propagación *in vitro* de cultivos, ya que se reduce el uso excesivo de agroquímicos porque no tenemos que utilizar, además no se utiliza mucho espacio, aportamos al ecosistema una variedad de planta de tomate de árbol libre de plagas y enfermedades para reducir el uso de pesticidas, y ayudar a la propagación de cultivo de tomate de árbol.

12.4 Económico

El impacto económico con el uso de esta técnica de propagación o multiplicación *in vitro* de cultivos, es que nos dan a un bajo costo y plantas de calidad, ya que hoy en día obtener plantas de calidad genera un alto costo y además no se sabe si las plantas tienen pureza varietal y resistencia a presencia de ataques de cualquier agente patógenos.

13 PRESUPUESTO

El presupuesto que se utilizó en esta investigación establecida lo detallamos en la tabla que está a continuación.

Tabla 20: Presupuesto de la investigación.

Recursos	Unidad	Cantidad	Valor unitario (USD)	Valor total (USD)
A. Costos Directos				
1. Mano de obra				
Selección del material vegetativo	Jornal	1	15	15
Preparación del material vegetativo	Jornal	1	15	15
Establecimiento del material aséptico	Jornal	1	15	15
Instalación de los frascos	Jornal	1	15	15
Control de condiciones ambientales	Jornal	1	15	15
Subtotal				75
2. Insumos				
Hormonas	l	2	10	20
Hipoclorito de sodio	L	1	3	3
Agar	g	50	0,08	4,0
Semillas	Unidad	1	0,18	1,80
Alcohol	Gl	1	12	12
Agua destilada	Gl	2	3,6	7,2
Sales minerales	Kg	2	5	10
Subtotal				58
Total, cotos directos				133
B. Costos indirectos				
Materiales				
Vasos de precipitación	Unidad	5	3	15
Caja de bisturí	Unidad	1	10	10
Paquete de servilletas	Unidad	2	2	4
Paquete de mascarillas	Unidad	4	0,25	1
Mechero	Unidad	1	15	15
Probeta	Unidad	2	5	10
Frascos de vidrio	Unidad	40	0,60	24
Pinzas	Unidad	1	2	2
Mandil	Unidad	2	8	16
Trasporte	Unidad	5	20	100
Viáticos	Unidad	12	3	36
Equipos				
Cámara de flujo laminar	Hr	9	10	90
Autoclave	Hr	1	15	15
Balanza analítica	Hr	1	8	8
Agitador magnético	Hr	1	8	8
pH – Metro	Hr	1	15	15
Microondas	Hr	1	12	12
Subtotal de costos indirectos				381
Total de costos directos				133
TOTAL DE COSTOS				\$ 514

Elaborado por: Ramos y Rea (2022).

14 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

14.1 Conclusiones

- En la fase de establecimiento de las semillas de tomate de árbol se obtuvo un 60% de contaminación, lo que evidencia que el protocolo utilizado para la desinfección de los explantes de partida (semilla), no fue el adecuado, o en su lugar, la semilla al no ser certificada tenía una alta carga de contaminación endógena.
- Se determinó que de los 4 tratamientos utilizados el T4 denominado como testigo MS (Murashige & Skoog) donde no se utiliza hormonas, se evidencia los mejores resultados para la fase de multiplicación *in vitro* en las variables porcentaje sobrevivencia con un 98%, longitud de brote con 3,45cm, largo de la raíz con 1,82cm, número de raíz por explante de 4,2 cm, además no provoca alta formación de callo organogénico (8%).
- Los costos más bajos se ven reflejados en el tratamiento de Murashige & Skoog (testigo) con un precio de 47,68 USD, mientras que el tratamiento T1 en el que se utiliza hormonas como Ácido Indol Acético y Bencilaminopurina sus costos aumentaron a 56,18 USD
- Por otro lado, aceptamos la hipótesis alternativa que menciona, que la utilización de explantes apicales tiene efecto en la propagación *in vitro* de tomate de árbol (*solanum betaceum*).

14.2 Recomendaciones

- Tener un buen material de partida, utilizar semillas certificada libre de cualquier agente patógeno ya que esto fue el principal problema de la tasa de contaminación *in vitro*, buscar otro tipo de protocolo de desinfección con otras dosis.
- De acuerdo a los resultados obtenidos se recomienda la utilización del tratamiento 4 Murashige y Skoog siendo este el testigo donde se evidencio el mejor desarrollo, ya que presento un progreso por encima de resultados esperados en porcentaje de sobrevivencia, longitud de brote, menor formación de callo, largo de la raíz y número de raíz por explante.
- Se recomienda dar seguimiento a la investigación para la fase de aclimatación de igual manera a las plántulas que ya están establecidas.

15. BIBLIOGRAFÍA

- AgriSolver. (24 de Octubre de 2019). Tizón tardío en tomate: Manejo Integrado de *Phytophthora infestans*. Obtenido de <https://www.agrisolver.com/blog/tizon-tardio-en-tomate-manejo-integrado-de-phytophthora-infestans>
- Barriga, L. (Noviembre de 2012). Evaluacion de la resistencia a *Colletotrichum acutatum* de poblaciones de tomate de árbol en estado de planta. Obtenido de <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/3752/6/UPS-YT00216.pdf>
- Benavides, C. (20 de julio de 2011). Tierra Adentro . Obtenido de Cultivo de Tomate de Árbol: <http://www.revistatierraadentro.com/index.php/agricultura/65-cultivo-de-tomate-de-arbol#:~:text=Selecci%C3%B3n%20de%20la%20planta%20madre,maduros%20y%20en%20buen%20estado.&text=Extracci%C3%B3n%20y%20lavado%20de%20semillas,una%20malla%20fina%20de%20alambre>
- Borrero Perellò, E. (2007). Protocolo para la Regeneración de Plántulas a partir de Explantes de hoja de cinco Variedades Ecuatorianas de Tomate de Arbol (*solanum betaceum*). Quito: Tesis. Universidad San Francisco de Quito.
- Buenaño Valdivieso, G. P., & Puma Carriel, J. E. (2021). *Ánálisis de la exportación de tomate de árbol ecuatoriano como fruta no tradicional período 2012-2018*. Guayaquil: Universidad de Guayaquil. Facultad de Ciencias Económicas.
- Buono, S., Aguirre, C., Abdo, G., Perondi, H., & Ansonnaud, G. (2018). Tomate de árbol. Obtenido de https://www.procisur.org.uy/adjuntos/01e8c39fb854_e-arbol-PROCISUR.pdf
- Cabrera, A., María, T., & Arahana , V. (2010). Propagación de tomate de árbol (*Solanum betaceum*) vía embriogénesis somática. *Avances en Ciencia y Tecnología*, 5.
- Cajal, A. (24 de Mayo de 2016). lifeder. Obtenido de 11 Beneficios del Tomate de Árbol para la Salud: <https://www.lifeder.com/beneficios-del-tomate-arbol/>
- Cámara de comercio de Bogotá. . (2015). *Manual de Tomate de Arbol . Programa de Apoyo Agrícola y Agroindustrial* , 12.
- Cano , D., & López , D. (2021). *Biotecnología Vegetal: Conceptos, Técnicas y Herramientas*. Guadalajara: Centro de investigación y asistencia en tecnología y diseño del estado de Jalisco A.C.

- Cardenas, A., Maldonado, J., & Vanzela, A. (28 de Abril de 2016). Propagación in vitro de *Solanum dolichosepalum* (Solanaceae). Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/cide/v7n2/v7n2a01.pdf>
- Castillo, A. (2004). Propagación de plantas por cultivo in vitro: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo. Las brujas, Canelones: Investigadora, Unidad de Biotecnología, INIA Las Brujas. Obtenido de <http://www.inia.uy/publicaciones/documentos%20compartidos/111219220807102417.pdf>
- Cerda, R., Mora, D., Marchena, L., Durán, A., & Ulloa, C. (2014). Cultivo in vitro del tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendt. (Fenotipo naranja) proveniente de Costa Rica. *Tecnología en Marcha*, 45-55.
- Criollo, H., Insuasti, K., & Delgado, W. (Diciembre de 2016). Regeneración in vitro de plántulas de tomate de árbol. Obtenido de <file:///C:/Users/PC/Downloads/gfischer,+Regeneraci%C3%B3n+in+vitro+de+pl%C3%A1ntulas+de+tomate+de+%C3%A1rbol%252c+252-261.pdf>
- Díaz. (17 de Febrero de 2020). Biovegen, Asociación IVERGEN. Obtenido de <https://biovegen.org/biovegen/que-es-la-biotecnologia-vegetal-y-su-importancia/>
- El comercio. (9 de abril de 2011). Todo el año hay tomate de árbol. Obtenido de <https://www.elcomercio.com/actualidad/negocios/ano-hay-tomate-de-arbol.html#:~:text=Seg%C3%BAn%20el%20ex%20presidente%20de,y%20Chimborazo%2C%20Azuay%20y%20Loja.>
- Flores Rodríguez, P. (2007). Red de Repositorios de Acceso Abierto del Ecuador. Recuperado el 21 de julio de 2022, de https://rraae.cedia.edu.ec/Record/ESPE_bc71e891bb14db36ca12190701c84e14
- García, G., & Estévez, M. (2019). Evaluación de diferentes medios de cultivo para la germinación in vitro de semilla de cultivares de tomate de árbol (*Solanum betaceum*). Quito: Quito: UCE.
- Guanoluisa, E. (2011). RRAAE. Obtenido de https://rraae.cedia.edu.ec/Record/UDLA_ab6631a3b832dec37a9c04ce495a18f6

- Gutiérrez, A. (2021). CIATEJ. Obtenido de <https://ciatej.mx/investigacion/biotecnologia-vegetal>
- Hora, L. (14 de Enero de 2022). Tomate de árbol se pierde por la paratrypa. La paratrypa deja sin cultivos de tomate a los agricultores de Tungurahua.
- Ibarra, Y., Cueva, J., Tamariz, C., & Gonzales, O. (junio de 2019). Efecto de los reguladores de crecimiento vegetal en la multiplicación y enraizamiento in vitro de senecio calvus (asteraceae). Obtenido de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2313-29572019000200003#:~:text=Los%20reguladores%20de%20crecimiento%20vegetal%20m%C3%A1s%20importantes%20son%20las%20auxinas,et%20al.%2C%202008
- INIAP. (2018). Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Obtenido de <http://tecnologia.iniap.gob.ec/index.php/explore-2/mfruti/rtomatea>
- Lema, J., & Gonzales, A. (2021). Micripropagación del cultivo de tomate (solanum Lycopersicum L) con diferentes medios de cultivos.
- Levitus, G., Echenique, V., Rubinstein, C., Hopp, E., & Mroginski, L. (2004). biotecnología y mejoramiento vegetal 2. Recuperado el 15 de julio de 2020, de <https://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/BiotecnologiyMejoramientovegetalII.pdf>
- Marcalla, F. (2020). Distribución de Solanaceas Cultivables en el Ecuador para mejorar la vigilancia Fitosanitaria de plagas y enfermedades. Latacunga: Tesis: Universidad Técnica de Cotopaxi.
- Martínez, A., Beltrán, O., & Ayala, G. (2001). Producción de fruta de tomate de árbol. Quito: Quito, EC: INIAP, Estación Experimental Santa Catalina, Programa de Fruticultura, 2001. Recuperado el 2 de Marzo de 2022, de <https://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/3706>
- Merelo, N. (2013). Proyecto de producción, comercialización y exportación del Néctar de Tamarillo (tomate de árbol) para el mercado español. Tesis, Universidad Internacional del Ecuador.

- Mesa, N., & Mendez, J. (2017). Características del fruto de tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* [Cav.] Sendtn) basadas en la coloración del arilo, en la Zona Andina Venezolana. Dialnet. Recuperado el 16 de Julio de 2022
- Morales Rubio, M., Espinoza, C., & Garzon, R. (2016). Cultivo de tejidos vegetales y su aplicación en productos naturales. Barcelona- España : Laboratorio de Micropropagación, Departamento de Biología Celular y Genética, Cuerpo Académico Consolidado de Biología Celular y Genética Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León, México. .
- Moreno Miranda, C., Molina, J., Ortiz, J., Peñafiel, C., & Moreno, R. (2020). Cadena de valor en la red de tomate de árbol (*Solanum betaceum*) en Ecuador. Redalib.
- Nave Rod, C. (2017). HyperPhysics. Obtenido de Dr. Carl Nave is an associate professor emeritus in the Physics Department at Georgia State University. Known to most people as "Rod", Nave has spent most of his 50-year career at Georgia State.
- Núñez, V. (2021). Optimización de Medios de Cultivos para la Obtención de Plantulas de In Vitro de Tomate de Arbol (*Solanum betaceum*) a partir de Semillas y Explantes. Ambato-Ceballos: Tesis: Universidad Técnica de Ambato.
- Padilla, V. (2013). EVALUACIÓN DE SUSTRATOS PARA LA OBTENCIÓN DE PLANTAS DE TOMATE DE ARBOL (*Solanum Betaceum*) CON LA. Ceballos : Tesis de grado. Universidad Técnica de Ambato.
- Paida, D. L. (1998). Evaluación del comportamiento del tomate de árbol (*Cyphomandra betacea*, Cav Seend) al cultivo in vitro. Recuperado el 12 de Marzo de 2022, de <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/17538/4/Tesis%20Escrita.pdf>
- Pazmiño, A. (2017). Micro propagación in vitro de plantas de tomate silvestre (*Solanum sp*) con dos tipos de fotoreguladores, Aplicados en tres dosis. Obtenido de <http://dspace.ueb.edu.ec/handle/123456789/1833>
- Pelacho, A., Closas, L., & Sanfeliu, J. (2005). Universidad de Lleida. Obtenido de <http://cv.udl.cat/cursos/76304/t2/t2.htm>
- Penelo, L. (09 de octubre de 2018). La vanguardia. Obtenido de Tamarillo: propiedades, beneficios y valor nutricional: <https://www.lavanguardia.com/comer/frutas/20181009/452232210728/alimentos->

frutas-tamarillo-beneficios-propiedades-valor-nutricional.html#:~:text=Tambi%C3%A9n%20conocido%20con%20el%20nombre,y%20vitaminas%20A%20y%20C.

- Peréz, E. (2017). Micropropagación y Biotización de Jojoba (*Simmondsia Chinensis* L) Mediante bacterias endofitas promotoras de crecimiento vegetal. La Paz, Baja California Sur.
- Plantigen. (2017). Woody Plant Medium With Calcium Chloride, Vitamins and Sucrose. 1-2.
- Ramírez, M., & Morayma, R. (2012). Multiplicación in vitro del anturio blanco *anthurium andreanum* utilizando diferentes medios de cultivo. Machala: Tesis, Machala : Universidad Técnica de Machala.
- Revelo, J., Mora, E., Gallejos, P., & Garces, S. (2008). Enfermedades, Nematodos e insectos, plagas de tomate de árbol . Quito: INIAP.
- Revelo, J., Pérez, E., & Maila, M. (2004). Cultivo ecológico del tomate de árbol en Ecuador. Quito: Quito, EC: INIAP, Estación Experimental Santa Catalina.
- Revelo, M. G. (15 de Marzo de 2017). cultivo de tomate de árbol . Obtenido de <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/18955/1/UPS-TTQ064.pdf>
- Rivera, A., & Montero, W. (Octubre de 2019). Efectos de la situación de insumos de crecimientos in vitro de Raicilla. Obtenido de file:///C:/Users/PC/Downloads/13510.pdf
- Rocha, P. (Enero de 2011). Agro-bio-tecnologías: herramientas bio-lógicas al servicio de la agricultura. *comunica* , pág. 22.
- Rodas Beltran, K. (2009). Influencia en el crecimiento de *Catleya maxima* con harina de plátano con sustancia nutritiva adicionado a medio Phatamax. Cuenca.
- Salazar, K. (agosto de 2020). Establecimiento de un protocolo de propagación in vitro a partir de dos explantes de *Solanum betaceum*. Obtenido de <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/18955/1/UPS-TTQ064.pdf>
- Sánchez, L., & Alvarenga, S. (3 de mayo de 2014). Calogénesis y establecimiento del cultivo de células en suspensión de *Uncaria tomentosa*. Obtenido de <https://www.scielo.sa.cr/pdf/tem/v28n1/0379-3982-tem-28-01-00105.pdf>

- Santiago, B. (14 de Febrero de 2015). Clasificación de los medios de cultivos. *Bacteriología*, págs. 1-2.
- Sotomayor, A., Perachimba, A., & Viera, W. (2017). Segregantes de tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.) con tolerancia/resistencia a la antracnosis (*Colletotrichum tamarilloi*). Quito: Quito, EC: INIAP, Estación Experimental Santa Catalina, Programa de Fruticultura, 2017.
- Studocu. (2021). Citoquininas, Fisiología Vegetal. Obtenido de <https://www.studocu.com/es/document/universidad-complutense-de-madrid/fisiologia-vegetal/citoquininas/2478832>
- Torres, G. (2013). Etapas de micropropagación . Slidehare, 5.
- Uquillas , L., Tenorio , J., & Yagual, M. (2011). Creación de una empresa de producción, comercialización y exportación de Tomate de Árbol. Guayaquil: Tesis de grado, Escuela Superior Politécnica.
- Varela, F. (07 de Mayo de 2018). Tecno Agro, Etapas de Micropropagación. Obtenido de <https://tecnoagro.com.mx/no.-124/etapas-de-micropropagacion>
- Vargas T., Y., Alcívar, W., Tinoco J., L., & Viera, W. (2018). Comportamiento agronómico de tomate de árbol (*solanum betaceum* cav.) injerto en solanáceas silvestres de la Amazonía ecuatoriana. Primer Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología Agropecuaria., 102-103.
- Vega Celedón, P. C. (2016). Biosíntesis de ácido indol-3-acético y promoción del crecimiento de plantas por bacterias. *Cultivos Tropicales*. Recuperado el 17 de Julio de 2022, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362016000500005#:~:text=La%20hormona%20vegetal%20%C3%A1cido%20indol,encuentra%20regulada%20en%20las%20plantas.
- Vilchez, J., Martínez, L., Álvarez, C., Albornoz, A., Albany, N., Molina, M., & García, L. (Marzo de 2014). Medio de cultivo y reguladores de crecimiento en la multiplicación in vitro *Psidium guajava* L. Obtenido de <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/viewFile/36/24>
- Villegas, I. C. (2009). Cultivo de tomate de árbol (*Cyphomandra betaceae*) Área: Manejo integrado de cultivos / frutales de altura. San José: Inta.

- Viteri D., P., León F., J., Vásquez C., W., Encalada, C., Martínez, A., Revelo, J., . . . Hinojosa, M. (2010). INIAP 700 Nicotiana, INIAP 701 Auriculatum, INIAP 702 Cujacu :Solanáceas silvestres utilizadas como portainjertos de tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.) con alto rendimiento, resistencia a enfermedades y mayor longevidad. Quito : Quito, EC: INIAP, Estación Experimental Santa Catalina, Programa Nacional de Fruticultura, Granja Experimental Tumbaco, 2010.
- Yaguache, Á., & Armijos, R. (1 de Junio de 2010). Germinación, brotación y conservación in vitro de *Solanum Cajanumensis*, Kunth (Tomate de árbol silvestre). Obtenido de Repositorio Institucional de la UTPL (RiUTPL): <https://dspace.utpl.edu.ec/handle/123456789/38>
- Yaguache Celi, Á. (2009). “GERMINACIÓN, BROTACION Y CONSERVACIÓN in vitro DE *Solanum cajanumensis*, KUNTH (tomate). Loja : Tesis: UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA.

16. Anexos

Anexos 1: Hoja de vida del docente

CURRICULUM VITAE

INFORMACION PERSONAL

Apellidos y nombres: Quinatoa Lozada Eduardo Fabián
Fecha de nacimiento: 02 de febrero de 1985
Estado civil: soltero
Cédula de ciudadanía: 1804011839
Ciudad de residencia: Cevallos
Dirección de domicilio actual: Cantón Cevallos, Barrio San Fernando
Celular: 0996385776
Correo electrónico: eduardo.quinatoa1839@utc.edu.ec



INSTRUCCIÓN ACADÉMICA

Máster Universitario en Biotecnología Molecular y Celular de Plantas, Universidad Politécnica de Valencia, España.

Ingeniero Agrónomo, Universidad Técnica de Ambato, Ecuador

EXPERIENCIA LABORAL

- Universidad Técnica de Cotopaxi Extensión La Maná, Docente-Investigador.
- Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas IBMCP, Laboratorio de cultivo *in vitro*. Investigador.
- Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ingeniería Agronómica. Investigador
- VitroPlantas, Empresa de Biotecnología. Gerente Propietario-Investigador.

CAPACITACIÓN O PARTICIPACIÓN EN EVENTOS CIENTÍFICOS:

- Formación de Tutores de Nivelación Especializados en Modalidad en Línea
- II Congreso Internacional de Investigación Agropecuaria y Tecnología Industrial
- Formulación de proyectos de investigación científica
- I Ciclo de conferencias: Biología Molecular aplicado a las Ciencias Agropecuarias

PUBLICACIONES:

Preliminary Phytochemical Screening of Some Andean Plants September- October 2014

<https://www.google.es/webhp?hl=es#hl=es&q=screening+eduardo+quinatoa+marco+castillo+metabolitos>

Anexo 2: Hoja de Vida del estudiante investigador.

CURRICULUM VITAE

INFORMACION PERSONAL

Nombres y Apellidos: Ramos Cuasquer David Andrés

Cédula de Identidad: 1724400419-9

Lugar y fecha de nacimiento: Quito, 27 de julio de 1995

Estado Civil: Soltero

Domicilio: Quito – Pichincha

Teléfonos: 0998688330

Correo electrónico: davit.rmos95@gmail.com



FORMACIÓN ACADÉMICA

Primer Nivel:

Unidad Educativa “Juan R. Figueroa”

Segundo Nivel:

Colegio Fiscal Mixto Eloy Alfaro

Tercer Nivel:

Universidad Técnica de Cotopaxi

TÍTULOS OBTENIDOS

Bachiller en ciencias

IDIOMAS

Español (nativo)

Suficiencia en el Idioma Inglés

CURSOS O SEMINARIOS DE CAPACITACIÓN

- **Suficiencia de inglés:** Universidad Técnica De Cotopaxi.
- **Seminario:** “II JORNADAS CIENTÍFICAS AGRONÓMICAS” de la Universidad Técnica De Cotopaxi.
- **Seminario:** “III JORNADAS AGRONÓMICAS” de la Universidad Técnica De Cotopaxi.
- **Seminario:** “IV CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA” de la Universidad Técnica De Cotopaxi.
- **“I ESCUELA DE FORMACIÓN DE LIDERES”** de la Universidad Técnica De Cotopaxi.

Anexo 3: Hoja de Vida del estudiante investigador.

CURRICULUM VITAE

INFORMACION PERSONAL

Nombres y Apellidos: Rea Oña Tatiana Ximena

Cédula de Identidad: 1208560746

Lugar y fecha de nacimiento: Guaytacama, 15 de septiembre de 1999

Estado Civil: Soltera

Domicilio: La Mana – Cotopaxi

Teléfonos: 0989503926

Correo electrónico: reaximena199@gmail.com



FORMACIÓN ACADÉMICA

Primer Nivel:

Red Educativa Guasaganda

Segundo Nivel:

Unidad Educativa Guasaganda

Tercer Nivel:

Universidad Técnica de Cotopaxi

TÍTULOS OBTENIDOS

Bachiller ciencias

IDIOMAS

Español (nativo)

Suficiencia en el Idioma Inglés

CURSOS O SEMINARIOS DE CAPACITACIÓN

- **Suficiencia de inglés:** Universidad Técnica De Cotopaxi.
- **Seminario:** “II JORNADAS CIENTÍFICAS AGRONÓMICAS” de la Universidad Técnica De Cotopaxi.
- **Seminario:** “III JORNADAS AGRONÓMICAS” de la Universidad Técnica De Cotopaxi.

Anexos 4: CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR

Comparecen a la celebración del presente instrumento de cesión no exclusiva de obra, que celebran de una parte, Ramos Cuasquer David Andrés identificado con C.C. N° 172440041-9 y Rea Oña Tatiana Ximena identificada/o con C.C. N° 1208560746 de estado civil solteros y con domicilio en La Mana, a quien en lo sucesivo se denominará **LA/EL CEDENTE**; y, de otra parte, el PhD. Cristian Fabricio Tinajero Jiménez, en calidad de Rector y por tanto representante legal de la Universidad Técnica de Cotopaxi, con domicilio en la Av. Simón Rodríguez Barrio El Ejido Sector San Felipe, a quien en lo sucesivo se le denominará **LA CESIONARIA** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes:

ANTECEDENTES: CLÁUSULA PRIMERA. - **LA/EL CEDENTE** es una persona natural estudiante de la carrera de **Ingeniería Agronómica**, titulares de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado **“Establecimiento de un protocolo de propagación *in vitro* a partir de explantes apicales de tomate de árbol (*Solanum betaceum*), en el Cantón Cevallos”** la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Facultad según las características que a continuación se detallan:

Historial académico. - Octubre_2017 – Septiembre_2022

Aprobación HCA. -

Tutor. - Ing. MSc. Eduardo Fabián Quinatoa Lozada

Tema. - **“Establecimiento de un protocolo de propagación *in vitro* a partir de explantes apicales de tomate de árbol (*Solanum betaceum*), en el Cantón Cevallos”**

CLÁUSULA SEGUNDA. - **LA CESIONARIA** es una persona jurídica de derecho público creada por ley, cuya actividad principal está encaminada a la educación superior formando profesionales de tercer y cuarto nivel normada por la legislación ecuatoriana la misma que establece como requisito obligatorio para publicación de trabajos de investigación de grado en su repositorio institucional, hacerlo en formato digital de la presente investigación.

CLÁUSULA TERCERA. - por el presente contrato, **LA/EL CEDENTE** autoriza a **LA CESIONARIA** a explotar el trabajo de grado en forma exclusiva dentro del territorio de la República del Ecuador.

CLÁUSULA CUARTA. - OBJETO DEL CONTRATO: Por el presente contrato **LA/EL CEDENTE**, transfiere definitivamente a **LA CESIONARIA** y en forma exclusiva los siguientes derechos patrimoniales; pudiendo a partir de la firma del contrato, realizar, autorizar o prohibir.

- a) La reproducción parcial del trabajo de grado por medio de su fijación en el soporte informático conocido como repositorio institucional que se ajuste a ese fin.
- b) La publicación del trabajo de grado.
- c) La traducción, adaptación, arreglo u otra transformación del trabajo de grado con fines académicos y de consulta.
- d) La importación a territorio nacional de copias del trabajo de grado hechas sin autorización del titular del derecho por cualquier medio incluyendo mediante transmisión.
- e) Cualquier otra forma de utilización del trabajo de grado que no está contemplada en la ley como excepción al derecho patrimonial.

CLÁUSULA QUINTA. - El presente contrato se lo realiza a título gratuito por lo que **LA CESIONARIA** no se halla obligada a reconocer pago alguno en igual sentido **LA/EL CEDENTE** declara que no existe obligación pendiente a su favor

CLÁUSULA SEXTA. - El presente contrato tendrá una duración indefinida, contados a partir de la firma del presente instrumento por ambas partes.

CLÁUSULA SEPTIMA. - CLÁUSULA DE EXCLUSIVIDAD. - Por medio del presente contrato, se cede en favor de **LA CESIONARIA** el derecho a explotar la obra en forma exclusiva, dentro del marco establecido en la cláusula cuarta, lo que implica que ninguna otra persona incluyendo **LA/EL CEDENTE** podrá utilizarla.

CLÁUSULA OCTAVA. - LICENCIA A FAVOR DE TERCEROS. - LA CESIONARIA podrá licenciar la investigación a terceras personas siempre que cuente con el consentimiento de **LA/EL CEDENTE** en forma escrita.

CLÁUSULA NOVENA. - El incumplimiento de la obligación asumida por las partes en la cláusula cuarta, constituirá causal de resolución del presente contrato. En consecuencia, la resolución se producirá de pleno derecho cuando una de las partes comunique, por carta notarial, a la otra que quiere valerse de esta cláusula.

CLÁUSULA DÉCIMA. - En todo lo no previsto por las partes en el presente contrato, ambas se someten a lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, Código civil y demás del sistema jurídico que resulten aplicables.

CLÁUSULA UNDÉCIMA. - Las controversias que pudieran suscitarse en torno al presente contrato, serán sometidas a mediación, mediante el Centro de Mediación del Consejo de la Judicatura en la ciudad de Latacunga. La resolución adoptada será definitiva e inapelable, así como de obligatorio cumplimiento y ejecución para las partes y, en su caso para la sociedad. El costo de tasas judiciales por tal concepto será cubierto por parte del estudiante que lo solicitare.

En señal conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga a los 31 días del mes de agosto del 2022.



Ramos Cuasquer David Andrés
EL CEDENTE



Rea Oña Tatiana Ximena
EL CEDENTE

Dr. Tinajero Jiménez Cristian Fabricio
EL CESIONARIO

Anexo 5: Certificación de anti plagio URKUN



Document Information

Analyzed document	SEGUNDO_URKUN_RAMOS_Y_REA.pdf (D143326654)
Submitted	2022-08-28 17:00:00
Submitted by	
Submitter email	kleber.espinosa@utc.edu.ec
Similarity	7%
Analysis address	kleber.espinosa.utc@analysis.orkund.com

Anexos 6: Certificado del Aval de Abstracto**CENTRO
DE IDIOMAS*****AVAL DE TRADUCCIÓN***

En calidad de Docente del Idioma Inglés del Centro de Idiomas de la Universidad Técnica de Cotopaxi; en forma legal **CERTIFICO** que:

La traducción del resumen al idioma Inglés del proyecto de investigación cuyo título versa: **“ESTABLECIMIENTO DE UN PROTOCOLO DE PROPAGACIÓN IN VITRO A PARTIR DE EXPLANTES APICALES DE TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betaceum*), EN EL CANTÓN CEVALLOS.”**, presentados por **Ramos Cuasquer David Andrés y Rea Oña Tatiana Ximena** egresados de la Carrera de: **AGRONOMÍA**, perteneciente a la **Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales**, lo realizó bajo mi supervisión y cumple con una correcta estructura gramatical del Idioma.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad y autorizo al peticionario hacer uso del presente aval para los fines académicos legales.

La Maná 29 de agosto del 2022

Atentamente,

A handwritten signature in blue ink that reads 'Elizabeth Ximena H.' with a horizontal line underneath.

Mg. Wendy Núñez
DOCENTE CENTRO DE IDIOMAS-UTC
CI: 0925025041

Anexo 7: Protocolo**PROTOCOLO DE PROPAGACIÓN *IN VITRO* A PARTIR DE EXPLANTES APICALES DE TOMATE DE ARBOL (*Solanum betaceum*).****MATERIALES:****Tabla 21:** materiales, equipos y reactivos.

Materiales	equipos	Reactivos / dosis
Vasos de precipitación	Cámara de flujo laminar	Murashige & skoog (2.5gr/L)
Bisturí	Autoclave	Ácido giberélico (0,25mg/L)
Mechero	Balanza analítica	Ácido naftalenacético (0,25 mg/L)
Probeta	Agitados magnético	Agar (6,8gr/L)
Frascos de vidrio	Ph metro	
Mandil	Microondas	
Pinzas		
Mascarilla		

Elaborado por: Ramos y Rea (2022).

1. FASE DE ESTABLECIMIENTO *IN VITRO***Estratificación**

Se le coloca a la semilla con ácido giberélico (0.25 mg/l) por 24h en refrigeración a una temperatura de 6°C para el ablandamiento de la cubierta de la semilla.

Desinfección de la semilla

Se utiliza el alcohol al 70% y 30% de agua destilada, hipoclorito de sodio 70% por 3 envases diferentes en un lapso de tiempo de 5-7-10 minutos. Para quitar cualquier residuo se lava o enjuaga con agua destilada esterilizada.

Preparación del medio de establecimiento

Se utiliza soluciones como:

Tabla 22: Soluciones.

Soluciones	Dosis
H ₂ O	1 litro
Agar agar	6,8gr/L
M.S	2,5 gr/L
S.C	20gr/L
ANA	0,25 mg/L
Ph	5,7

Elaborado por: Ramos y Rea (2022).

Para que se quede disuelto uniformemente se introduce en un microondas por 3 minutos y luego se procede a colocar 25ml por frascos de vidrios, procedemos a colocar a la autoclave para su total esterilización por 1 hora.

Siembra de la semilla

- Colocar las semillas dentro de los frascos de vidrios, utilizando cámara de flujo laminar.
- Sellar con plástico film y colocar fecha.
- Exponer a luz artificial 16/8, por 21 días.

2. FASE DE MULTIPLICACIÓN IN VITRO

Una vez germinado la semilla con una altura promedio de 10cm de las plántulas en la fase de establecimiento, se procede a realizar un medio de cultivo para la multiplicación y el enraizamiento:

Tabla 23: fase de multiplicación in vitro.

Soluciones	Dosis
H ₂ O	1 litro
Agar agar	6,8gr/L
M.S	2,5 gr/L
S.C	20gr/L
Ph	5,7

Elaborado por: Ramos y Rea (2022).

Anexo 8: Preparación del material de partida de tomate.

Fotografía 1: estratificación de la semilla



Elaborado por: Ramos y Rea (2022)

Fotografía 2: preparación del medio de germinación



Elaborado por: Ramos y Rea (2022)

Anexo 9: Desinfección del material de partida del tomate de árbol.

Fotografía 3: solución de cloro al 70%.



Elaborado por: Ramos y Rea (2022)

Fotografía 4: solución de alcohol al 70%.



Elaborado por: Ramos y Rea (2022)

Anexo 10: Fase de introducción in vitro

Fotografía 6: Medio de germinación (agar).



Elaborado por: Ramos y Rea (2022).

Fotografía 7: Introducción de la semilla.



Elaborado por: Ramos y Rea (2022).

Anexo 11: Fase de multiplicación de tomate de árbol.

Fotografía 8: Preparación del explante.



Elaborado por: Ramos y Rea (2022).

Fotografía 9: siempre del explante.



Elaborado por: Ramos y Rea (2022).

Fotografía 10: Tratamientos en desarrollo.



Elaborado por: Ramos y Rea (2022).

Fotografía 11: Ubicación en cámara de crecimiento.



Elaborado por: Ramos y Rea (2022).

Anexo 12: Fotografía de diferentes tratamientos.

Fotografía 12: T1MS + AIA(0.2mg/L)
BAP(0.25mg/L).



Elaborado por: Ramos y Rea (2022).

Fotografía 13: T2 MS + BAP(1mg/L)



Elaborado por: Ramos y Rea (2022).

Fotografía 14: T3 MS + BAP(0.25mg/L) + AG3(0.25).



Elaborado por: Ramos y Rea (2022).

Fotografía 15: T4 Testigo.



Elaborado por: Ramos y Rea (2022).

Anexos 13: Variables a evaluar.

Fotografía 16: porcentaje de contaminación



Elaborado por: Ramos y Rea (2022).

Fotografía 17: Porcentaje de callo.



Elaborado por: Ramos y Rea (2022).