

ESTABLECIMIENTO IN VITRO DE TOMATE DE ARBOL (*Solanum betaceum*) POR SEMILLA

IASA
Instituto de Agroecología y Seguridad Alimentaria



Centro de Investigación e Innovación
Agrotecnológica la Barranca -CIIAB
Laboratorio de Biotecnología
Colaboración en la sistematización de
investigaciones con el:
Instituto de Agroecología y Seguridad Alimentaria



UNIVERSIDAD
SAN FRANCISCO XAVIER
UNIVERSIDAD DIGNA





Agr. Fátima Shirley Duarte Royder

Resumen

La investigación de establecimiento de tomate de árbol en cultivo In Vitro, fue desarrollado en el Centro de Investigación e Innovación Agrotecnológica La Barranca (CIIAB), dependiente de la Carrera Agronomía Técnico Superior de la Facultad de Ciencias Agrarias, con el apoyo de Instituto de Agroecología y Seguridad Alimentaria IASA, el CIIAB se encuentra a 14 km. de la ciudad de Sucre en la comunidad de La Barranca.

Se probaron dos protocolos para cada una de las variedades de tomate de árbol (amarilla, naranja, rojo, amarillo rojizo) se utilizó semillas para el establecimiento, de esta manera realizar la propagación In Vitro. Los frutos fueron recolectados del municipio de Colomi del departamento de Cochabamba.

En la fase de establecimiento se utilizó para la desinfección el hipoclorito de sodio al 1% y un fungicida sistémico en base a Captan, durante 10 minutos de sumersión. En la preparación de los medios de establecimiento, el medio que tuvo mejor resultado fue MS (Murashige & Skoog) completo, suplementado con AG3 (ácido giberelico), BAP (6-Bencilaminopurina), PaCa (pantotenato de calcio), Carbón activado, una fuente de carbono siendo el azúcar y agar que es el gelificante con un pH de 5,8.

Palabras claves: In Vitro, MS, AG3, BAP, PaCa.

Introducción

El tomate de árbol es una fruta tropical de origen andino (Pringle y Murray, 1991) de amplias posibilidades de exportación (Bonnet y Cárdenas, 2012); desde el punto de vista nutricional, posee un alto contenido de fibra, vitaminas A y C, además de ser rico en minerales como calcio, hierro y fósforo; actúa como antioxidante y fortalece el sistema inmunológico (Cadena, 2006). El tomate de árbol (*Cyphomandra betaceae*), también conocido como tomate de palo, tomate cimarrón, pertenece a la familia de las solanáceas. Es una planta originaria de los Andes Peruanos, dispersa en otros países de la región andina como Chile, Ecuador, Bolivia, Brasil y Colombia. También se cultiva en las zonas montañosas de África, India y Australia. (Calvo, 2009).

El tomate de árbol es una de las frutas con mayor potencial en los mercados nacionales e internacionales para consumo fresco y procesado. Es un cultivo fácil de establecer, pues se tiene experiencia necesaria para adelantar con éxito su cultivo, hay buena acogida para la venta, especialmente si se está cerca de los centros de consumo, con precios aceptables para el productor (Buitrago, 2008).

En Chuquisaca se encuentra en estado silvestre en el Bosque Tucumano Boliviano, formando el dosel bajo del bosque. Según Carretero et al (2011), se reporta con el nombre común de pepino de monte o tomate de campo; según el autor estas corresponderían a dos especies “*Solanum maternum*” y “*Cyphomandra betacea*”.

Avances en la Biotecnología aplicada al género y especies del tomate árbol

El establecimiento de programas de mejoramiento genético se ha visto dificultado por la reducida diversidad genética encontrada en las variedades cultivadas de esta especie (Ordoñez, 2007), por lo que convendría recurrir a los parientes silvestres en búsqueda de genes de resistencia y tolerancia a factores bióticos y abióticos. Los métodos propagación in vitro podrían contribuir mediante la multiplicación masiva de genotipos seleccionados por sus características deseables, y mediante la introducción de genes foráneos mediante Ingeniería Genética.

Adicionalmente, se ha demostrado que la embriogénesis somática en *Solanum betaceum* L. y otras especies vegetales brinda la posibilidad de homogenizar las plantaciones mediante la multiplicación de clones con las características de interés para el productor y el mercado demandante (Casimiro, 2014). Esta herramienta abre además la posibilidad de realizar trabajos en transgéncia y el manejo de silvicultura clonal de alta productividad (Celestino et al., 2005), siendo también posible su aplicación en áreas de investigación como variación clonal, estudios celulares y crioconservación de líneas embriogénicas (Arahana et al., 2010).

La producción comercial de plantas mediante técnicas de micropropagación, tiene varias ventajas sobre los métodos tradicionales de propagación a través de semillas, corte, injerto y capas de aire, etc. Además de ser un proceso de propagación rápida, puede conducir a la producción de plantas libres de patógenos (Hussain, Ahmed, Nazir, & Ullah, 2012).

Una alternativa a la propagación convencional y sus limitantes, es la utilización de procedimientos basados en el cultivo in vitro, que permiten multiplicar de forma rápida, económica y rentable, material élite en cualquier época del año. Aspectos como la calidad del explante utilizado, su procedencia, el protocolo de desinfección, la asepsia, el medio de cultivo empleado en cada una de las diferentes etapas y las condiciones físicas de incubación son fundamentales para el desarrollo exitoso de esta técnica (Calva y Pérez, 2005). Los conjuntos de estos factores dentro del sistema in vitro permiten la reproducción de plantas completas a partir del material seleccionado e introducido, logrando mantener un material axénico, viable y vigoroso para su adecuada manipulación (Correia, Lopes y Canhoto, 2011).

El Centro de Investigación e Innovación Agrotecnológica La Barranca junto al IASA y la FAO quieren lograr la micropropagación del tomate de árbol para la propagación masiva de plantas libres de virus y así poder abastecer a huertos familiares, y de esta manera lograr que el tomate de árbol no se pierda en nuestro medio.

Título de investigación	Resumen	Medios de cultivo (Reguladores de crecimiento utilizados)	Referencias (año)	Disponible
Potencial de propagación in vitro para el tomate de árbol partenocárpico <i>Cyphomandra betacea</i> Cav. (Sendt)	Se evaluaron 10 medios de cultivo para el establecimiento y la multiplicación in vitro de tomate de árbol	Murashige Skoog (1962) (MS) 6-bencilaminopurina (BAP) ácido indolacético (AIA) Cisteína ácido ascórbico caseína	John Alexander Espinosa Orrego; Ofelia Trillos González; Rodrigo Alberto Hoyos Sánchez; Lucía Afanador Kafuri y Guillermo Correa Londoño Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín.Vol.58, No.1.p.2685-2695.2005.	http://www.scielo.org.co/pdf/rfnam/v58n1/a08v58n1.pdf
Regeneración in vitro de plántulas de tomate de árbol [<i>Solanum betaceum</i> (Cav.) Sendt.]	Este trabajo pretendió evaluar diferentes alternativas de micropropagación para determinar la opción más eficiente de multiplicación masiva de plántulas de tomate de árbol (<i>Solanum betaceum</i>)	ácido indolacético (AIA) ácido naftalenacético (ANA) ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) 6-bencilaminopurina (BAP) Murashige Skoog (1962)	Hernando Criollo e. Katherine Insuasti Wilmer Delgado Revista colombiana de ciencias hortícolas - vol. 10 - no. 2 - pp. 252-261, julio-diciembre 2016	http://www.scielo.org.co/pdf/rcch/v10n2/v10n2a06.pdf
Micropropagación del tomate de árbol (<i>Cyphomandra betacea</i> (Cav.) Sendt.), SOLANACEAE SILVESTRE USADA EN LA ALIMENTACIÓN HUMANA	Fueron cultivados cotiledones e hipocotilos de plántulas germinadas in vitro	Murashige Skoog (1962) MS Inositol ácido nicotínico glicina tiamina piridoxina sacarosa Bencil Adenina (BA) Ácido Indol Acético (AIA) Zeatina (Z)	Idel Contreras Gatita y Jonatha Almeida Revista Forest. Venez. 47(2) 2003	http://www.saber.ula.ve/bitstream/handle/123456789/24321/articulo1.pdf?sequence=2&isAllowed=y

Métodos y equipos

El Laboratorio de Biotecnología del Centro de Investigación e Innovación Agrotecnológica la Barranca (CIIAB), con el apoyo del Instituto de Agroecología y Seguridad Alimentaria en la sistematización del resultado de la investigación, desarrollo la experimentación utilizando técnicas de micropropagación o propagación clonal de esta especie, que es una de las aplicaciones más generalizadas del cultivo in vitro

Fases. - Dentro la propagación in vitro se tienen varias fases, donde se realiza diferentes operaciones y preparación de los diferentes medios de cultivo ya sea de establecimiento, multiplicación, elongación y enraizamiento, en nuestro caso trabajamos establecimiento de Tomate de árbol durante el período comprendido entre agosto 2021 a febrero 2022 donde se siguieron las siguientes fases:

Fase 0

Preparación de la planta madre

Para poder establecer el cultivo en condiciones asépticas, se tuvo que recoger los frutos de nuestra planta madre que tiene que ser una planta vigorosa, no presentar ninguna plaga ni enfermedad, que este en constante cuidado, bajo riego adecuado y si se pudiera bajo invernadero. Dando así a nuestra planta madre, las condiciones óptimas para poder ser una planta madre donadora de material vegetal.

Una vez colectados los frutos en el Departamento de Cochabamba Colomi se procede a hacer madurar durante unos días más después de la cosecha, para después procesar y separar la pulpa de la semilla. Para luego hacer secar en la sombra durante dos días.



Fase 1

Desinfección del material vegetal

Se procede a la desinfección de la semilla primero utilizamos jabón neutro y agua de llave, se procede a hacer 3 enjuagues con agua destilada, y agregar un fungicida sistémico en base a Captan cuyo nombre químico es N-(triclorometiltio) ciclohex-4-en-1,2-dicarboximida; en la proporción de 2 gr/l.



Fase 2

Siembra del material in vitro

Luego de la desinfección superficial, de las semillas o las yemas dependiendo del material seleccionado, que en nuestro caso se utilizó semillas, se debe seguir el proceso de desinfección con alcohol al 70% durante 3 minutos e hipoclorito de sodio al 3 % durante 3, 5, 10 minutos secuencialmente viendo cual nos resulta óptimo para nuestras semillas, y proceder con los respectivos enjuagues con agua destilada esterilizada para seguir con el siguiente paso, que consiste en poner los explantes en medio de cultivo estéril. En un período de 30 a 45 días, comienza el proceso de germinación o regeneración de nuevos tejidos vegetales, iniciando el ciclo de cultivo in vitro.



Tabla N. 1. Composición de los medios de establecimiento Tomate de árbol

Componentes	Amarillo	Naranja	Rojo	Amarillo Rojizo
Ms (Murashige & skoog)	Completo	Completo	Completo	Completo
Azúcar	30 gr/l	30 gr/l	30 gr/l	30 gr/l
AG3	0,5 mg/l	0,5 mg/l	0,5 mg/l	0,5 mg/l
BAP	0,3 mg/l	0,3 mg/l	0,3 mg/l	0,3 mg/l
PaCa	2 ml/l	2 ml/l	2 ml/l	2 ml/l
Carbón Activado	1,5 gr/l	1,5 gr/l	1,5 gr/l	1,5 gr/l
Agar	7 gr/l	7 gr/l	7 gr/l	7 gr/l
pH	5,8	5,8	5,8	5,8



Tabla N. 2. Composición de los medios de establecimiento Tomate de árbol

Componentes	Amarillo	Naranja	Rojo	Amarillo Rojizo
Ms (Murashige & skoog)	Completo	Completo	Completo	Completo
Azúcar	25 gr/l	25 gr/l	25 gr/l	25 gr/l
AG3	0,5 mg/l	0,5 mg/l	0,5 mg/l	0,5 mg/l
BAP	0,3 mg/l	0,3 mg/l	0,3 mg/l	0,3 mg/l
PaCa	-	-	-	-
Carbón Activado	-	-	-	-
Agar	7 gr/l	7 gr/l	7 gr/l	7 gr/l
pH	5,8	5,8	5,8	5,8

En la tabla N 1 podemos observar las diferentes cantidades de los elementos para la preparación de 1 litro de agua usado en el establecimiento de tomate de árbol con el uso de carbón activado y PaCa

En la tabla N 2 podemos observar también las diferentes cantidades de los elementos para la preparación de 1 litro de agua usado en el establecimiento sin carbón activado y PaCa

Protocolos

Durante el inicio del trabajo en el laboratorio se prepara un protocolo para cada especie y para cada una de las diferentes fases ya sea de establecimiento, multiplicación o enraizamiento del material biológico, en nuestro caso fue el de establecimiento de tomate de árbol por semilla.

Se tiene un protocolo desde la recolección del material vegetal, ingreso al laboratorio, tiempos de lavado y desinfección, con que productos, si fuese necesario como almacenar el material vegetal, que tipo de instrumental se usara, la desinfección del instrumental, ambientes, como la preparación de los diferentes medios “en peso/litros de agua”, el llenado en los diferentes envases a usar, esterilización del medio, la metodología de establecimiento o manejo dentro de la cámara de siembra para cada una de las diferentes fases y el manejo en la sala de crecimiento “ temperatura y fotoperiodo”, la esterilización del sustratos para la fase de aclimatación.

Equipos, materiales y reactivos

Para poder realizar el trabajo en el laboratorio se debe contar con lo siguiente que se detallan a continuación:

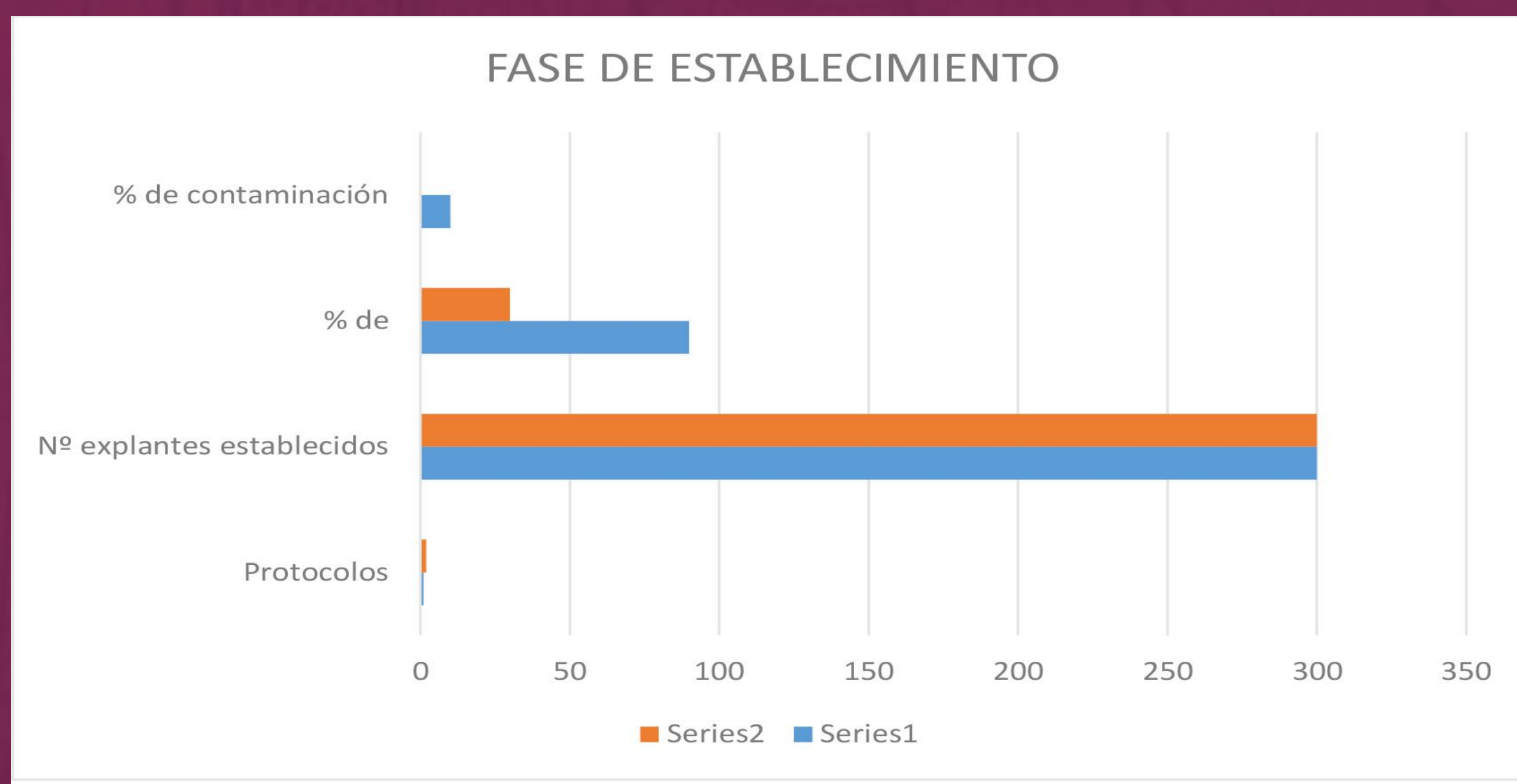
Tabla N. 3. Materiales, equipos y reactivos con los que debemos contar en el Laboratorio

Equipos	Material de vidrio	Reactivos	
Cámara o cabina de flujo laminar	Tubos de ensayo	Ms (Murashige & skoog)	IAA, 2,4 D
Balanza analítica	Frascos de vidrio	azúcar	KINETINA, TDZ, 2IP
Balanza de precisión	Probetas	AG3	
Agitador magnético	Pipetas	BAP	
pH metro	Cajas Petri	PaCa	
Destilador de agua	Frascos o botellas de polipropileno	ANA	
Autoclave	Goteros	IBA	
Horno mufla	Vasos precipitados	Tiamina	
Refrigerador	Gradillas para tubos de ensayo	Myoinositol	
Microondas	Mechero	Carbón Activado	
Cocina	Pisetas	Agar	

Resultados

En el cuadro N° 1 se puede observar los resultados obtenidos para los diferentes protocolos y/o medios, que serían los más prometedores de la investigación.

Grafico N. 1. Resultados del establecimiento de Tomate de árbol por semilla



En el gráfico N° 1 se puede observar los resultados en porcentajes de explantes logrados en la fase de establecimiento y comparando los 2 protocolos que se utilizaron siendo el más prometedor el que tiene carbón activado y BAP, donde se tiene el resultado más bajo de 10 % en uno de los medios teniendo la menor contaminación.

Conclusiones

Se pudo lograr el establecimiento in vitro de semillas de tomate de árbol provenientes de frutos recolectados del Departamento de Cochabamba, municipio de Colomi, en el proceso de desinfección se empleó hipoclorito de sodio al 1% y fungicida sistémico en base a captan con sumersión de 10 minutos siendo el que tuvo mejor resultado.

En la preparación de medios se pudo evidenciar que:

Adicionando BAP y Carbón Activado en el medio de establecimiento tuvimos mejor desarrollo y poca contaminación logrando mayor cantidad de posibles vitro plantas.

En el segundo medio que no contiene BAP y Carbón Activado se tuvo un 70% de contaminación y la germinación de la semilla fue mucho más lento que en el otro medio.

6. Agradecimientos

Universidad Mayor Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca

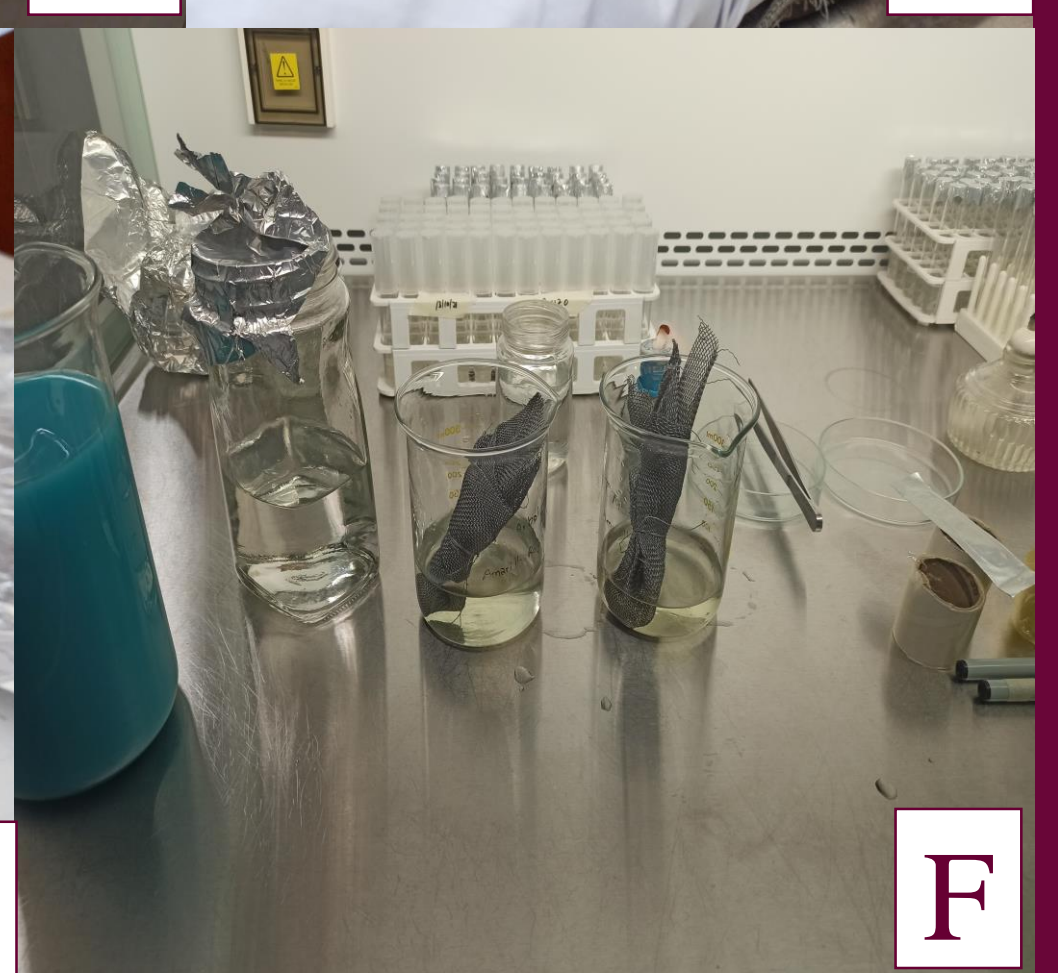
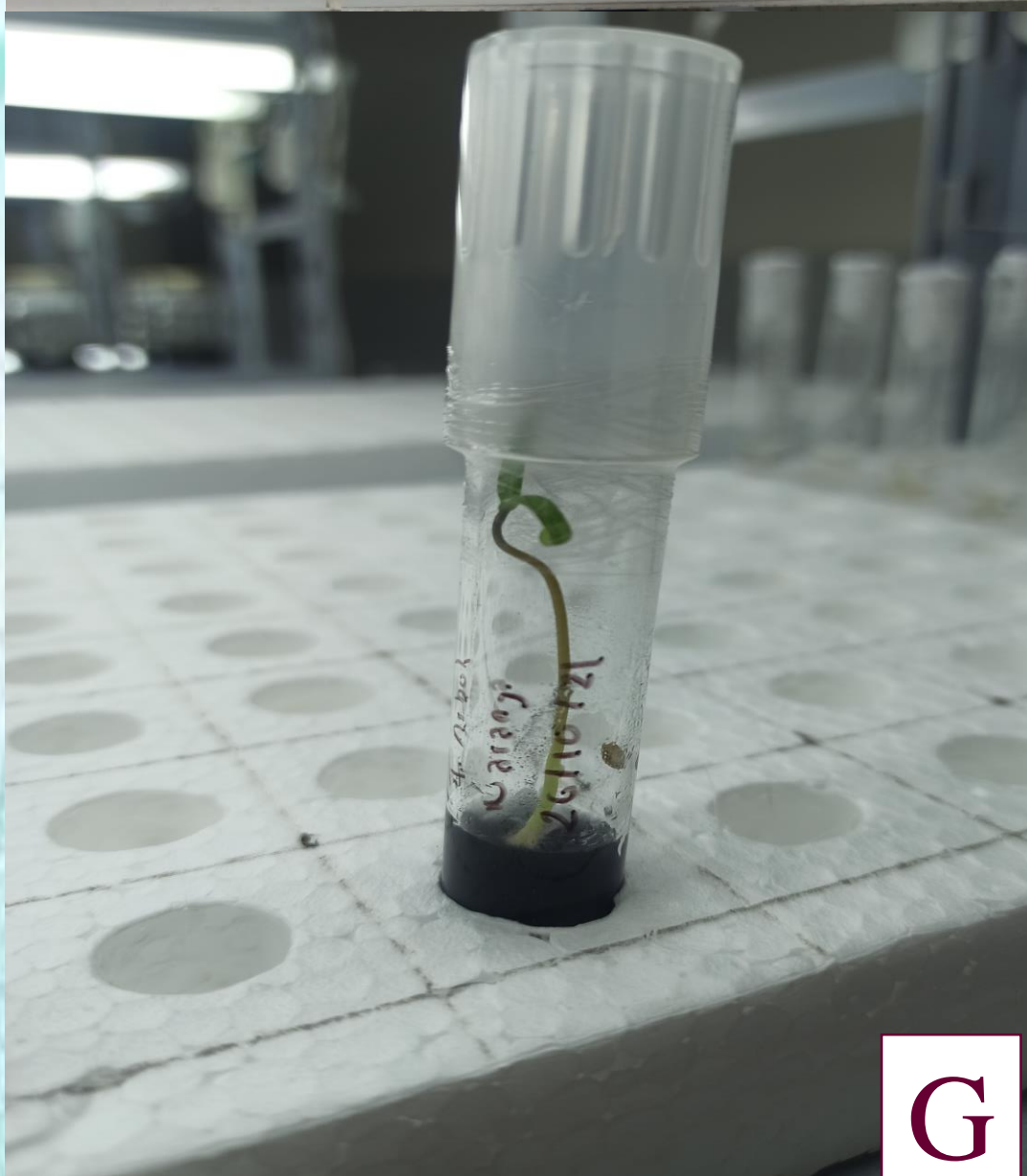
Facultad de Ciencias Agrarias
Carrera Agronomía Técnico Superior

Instituto de Agroecología y Seguridad Alimentaria IASA

Centro de Investigación e Innovación Agrotecnológica La Barranca (CIIAB).

Referencias bibliográficas

- Regeneración in vitro de plántulas de tomate de árbol [*Solanum betaceum* (Cav.) Sendt.] Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rcch/v10n2/v10n2a06.pdf>
- Idel Contreras Gatita y Jonatha Almeida, Laboratorio de Cultivos in vitro. Centro de Ingeniería Genética. Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales. Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela. Disponible en: <http://www.saber.ula.ve/bitstream/handle/123456789/24321/articulo1.pdf?sequence=2&isAllowed=y>
- Acosta, B. (2019). Ecología verde plantasy jardines cultivo y cuidado de las plantas. Disponible en: <https://www.ecologiaverde.com/cultivo-de-tomate-de-arbol-pdf>.
- Agricultura. (2006). Cultivo de tomate de arbol. Disponible en: <https://www.engormix.com/agricultura/articulos/cultivo/tomate-de-arbol>.
- alimentos, H. d. (4 de 10 de 2021). tomate de arbol. Disponible en: <http://hablemosdealimentos.com/c-frutas/tomate-de-arbol/temperatura>.
- Amaya, J. (2006). Tomate de arbol (*Cyphomandra betacea*). p.4.
- Avila, E. (2015). Tomate de arbol. Disponible en: [file:///C:/Users/CentroVirtual/Downloads/Tomate-de-arbol.20\(5\).pdf](file:///C:/Users/CentroVirtual/Downloads/Tomate-de-arbol.20(5).pdf).
- Borrero, E. (2007). Protocolo para la regeneracion de plantulas a partir de explantesde hoja cinco variedades ecuatorianos de tomate de arbol. p.5.
- Buono, S. (8 de 10 de 2021). Tomate de arbol. p.7.
- Calvo, I. ((2009)). Cultivo de tomate de arbol (*Cyphomandra betaceae*). Disponible en: <http://.mag.go.cr/bibliotecavirtual/AV-0> • John Alexander Espinosa Orrego; Ofelia Trillos González; Rodrigo Alberto Hoyos Sánchez; Lucía Afanador Kafuri y Guillermo Correa Londoño, Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín.Vol.58, No.1.p.2685-2695.2005. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rfnam/v58n1/a08v58n1.pdf982.pdf>
- Idel Contreras Gatita y Jonatha Almeida, Revista Forest. Venez. 47(2) 2003 Disponible en: <http://www.saber.ula.ve/bitstream/handle/123456789/24321/articulo1.pdf?sequence=2&isAllowed=y>.

**A****B****C****D****E****F****G****H**

A: Recolección de frutos Municipio de Colomi departamento de Cochabamba.

B: Procesado de frutos retiro de la pulpa y separado de semillas. **C:** Lavado de semillas. **D:** Almacenamiento de semillas. **E:** Desinfección. **F:** Establecimiento In Vitro. **G:** Brotación. **H:** Brotación a partir semilla tomate de árbol.

