



ESPE

UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

**UNIDAD DE GESTIÓN DE POSGRADOS
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA
AGRICULTURA**

MAESTRÍA EN AGRICULTURA SOSTENIBLE

**TESIS PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MAGISTER EN
AGRICULTURA SOSTENIBLE**

**EFFECTO DE PESTICIDAS CONVENCIONALES, ECOLÓGICOS
Y BIOLÓGICOS SOBRE LA VIABILIDAD DEL POLEN EN
MORA DE CASTILLA Y TOMATE DE ÁRBOL.**

AUTOR: Ing. FLAVIO GERMÁN PADILLA BADILLO

DIRECTOR: Ing. NORMAN SORIA IDROVO, M.Sc.

**SANGOLQUÍ
2015**

CERTIFICADO DE TUTORÍA**UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS - ESPE
DEPARTAMENTO DE POSGRADOS****CERTIFICADO**

Ing. Agr. Norman Soria Idrovo M.Sc.

CERTIFICA

Que el trabajo titulado **“EFECTO DE PESTICIDAS CONVENCIONALES, ECOLÓGICOS Y BIOLÓGICOS SOBRE LA VIABILIDAD DEL POLEN EN MORA DE CASTILLA Y TOMATE DE ÁRBOL”**, realizado por Flavio Germán Padilla Badillo ha sido guiado y revisado periódicamente y cumple normas estatutarias establecidas por la ESPE, en el Reglamento de Estudiantes de la Universidad de las Fuerzas Armadas - ESPE.

Debido a que es una investigación que beneficiará a los agricultores productores de mora de Castilla y de tomate de árbol, ya que con los resultados obtenidos en este trabajo se logrará mejorar sus condiciones de vida, y alcanzar mayor producción.

El mencionado trabajo consta de documento empastado y disco compacto el cual contiene los archivos en formato portátil de Acrobat (pdf). Autorizan a nombre de Flavio Germán Padilla Badillo que lo entregue a la Dra. Amparo Martínez, PhD, en su calidad de Directora del Centro de Posgrados de la Universidad de las Fuerzas Armadas - ESPE.

Sangolquí, 15 de mayo del 2015.



Ing. Agr. Norman Soria Idrovo M.Sc.
DIRECTOR

UNIVERSIDAD DE LA FUERZAS ARMADAS - ESPE
UNIDAD DE GESTIÓN DE POSGRADOS
DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD

Flavio Germán Padilla Badillo

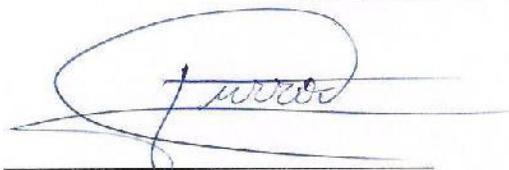
DECLARO QUE:

El proyecto de grado denominado **"EFECTO DE PESTICIDAS CONVENCIONALES, ECOLÓGICOS Y BIOLÓGICOS SOBRE LA VIABILIDAD DEL POLEN EN MORA DE CASTILLA Y TOMATE DE ÁRBOL"**, ha sido desarrollado en base a una investigación exhaustiva, respetando derechos intelectuales de terceros, conforme las citas que constan en los pies de las páginas correspondientes, cuyas fuentes se incorporan en la bibliografía.

Consecuentemente este trabajo es de mi autoría.

En virtud de esta declaración, me responsabilizo del contenido, veracidad y alcance científico del proyecto de grado.

Sangolquí, 15 de mayo del 2015.



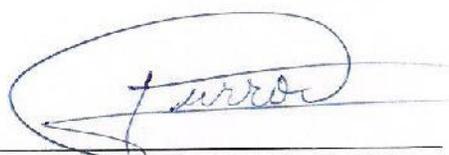
Flavio Germán Padilla Badillo.

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS - ESPE
UNIDAD DE GESTIÓN DE POSGRADOS

AUTORIZACIÓN

Yo, Flavio Germán Padilla Badillo, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas la publicación, en la biblioteca virtual de la Institución del trabajo **"EFECTO DE PESTICIDAS CONVENCIONALES, ECOLÓGICOS Y BIOLÓGICOS SOBRE LA VIABILIDAD DEL POLEN EN MORA DE CASTILLA Y TOMATE DE ÁRBOL"**, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi exclusiva responsabilidad y autoría.

Sangolquí, 15 de mayo del 2015.



Flavio Germán Padilla Badillo.

DEDICATORIA

Dedico este estudio a mi esposa Elsita Galarza y a mis hijos, que han sido un baluarte e inspiración para la ejecución de esta investigación, además a todos los agricultores, cultivadores de frutales andinos, para que sean ellos los que utilicen esta información.

Ing. Flavio Padilla.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a la Universidad de las Fuerzas Armadas por haberme permitido realizar los estudios de postgrado.

Agradezco a las autoridades de turno del Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura por brindarme las facilidades para culminar esta investigación.

Un agradecimiento especial al Ing. Norman Soria, por su alma de maestro, por sus dotes y forma de transmitir sus conocimientos sin egoísmo y por ser un excelente compañero y amigo.

Un reconocimiento y a la vez un agradecimiento al Lcdo. Marco Taco por su apoyo durante el trabajo de laboratorio.

Una gratitud al Ing. Abraham Oleas por su sabiduría y buena predisposición a colaborar en el trabajo.

Al Ing. Gabriel Suarez un agradecimiento por su ayuda en la colaboración y análisis.

Al Ing. Lenin Ron por su colaboración en el trabajo mi gratitud.

A la ingeniera Sara Guerra, del laboratorio de Biotecnología de la ESPE, por su valiosa ayuda en microscopia electrónica.

Ing. Flavio Germán Padilla Badillo.

ÍNDICE GENERAL

EFFECTO DE PESTICIDAS CONVENCIONALES, ECOLÓGICOS Y BIOLÓGICOS SOBRE LA VIABILIDAD DEL POLEN EN MORA DE CASTILLA Y TOMATE DE ÁRBOL

ÍNDICE DE CONTENIDO

CERTIFICADO	ii
AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD	iii
AUTORIZACIÓN	iv
DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTO	vi
ÍNDICE GENERAL	vii
INTRODUCCIÓN	xxi
CAPÍTULO I	1
EL PROBLEMA	1
1.1 Tema.....	1
1.1.1. Planteamiento del problema.....	1
1.1.2. Análisis crítico.....	1
1.1.3. Diagnósis.....	2
1.1.4. Trabajos similares.....	2
1.1.5. Formulación del problema.....	3
1.2 Justificación.....	3
1.3 Objetivo.....	4
1.3.1 Objetivo general.....	4
1.3.2 Objetivos específicos.....	4
CAPÍTULO II	5

MATRIZ DE MARCO LÓGICO	5
2.1 Metas	5
2.2 Matriz de variables	6
2.3 Hipótesis	7
CAPÍTULO III	8
LITERATURA DE REFERENCIA	8
3.1 Mora de Castilla (<i>Rubus glaucus</i> Benth).....	8
3.1.1. Origen.	8
3.1.2. Variedades.....	8
3.1.3. Características biológicas de la mora de Castilla.....	8
3.1.3.1. Descripción botánica.....	8
3.1.3.2. Las inflorescencias.....	9
3.1.3.3. Las flores.....	9
3.2 El tomate de árbol (<i>Solanum betaceum</i> Cav).....	9
3.2.1. Origen.	9
3.2.2. Variedades.....	10
3.2.3. Características biológicas del tomate de árbol.....	10
3.2.3.1. Descripción botánica.....	10
3.2.3.2. Flores.	10
3.3. Biología floral del polen.....	11
3.3.1. Descripción botánica del polen.	11
3.3.2. Estructura de un grano de polen.....	12
3.3.3. Como se opera en varias especies para recolectar polen.....	13
3.4. Caracterización morfológica del polen	14
3.4.1. El polen morfológica, estructura y diversidad.	14
3.4.2. Polaridad de granos de polen.	16

3.4.3.	Morfología del polen según el género y la especie.	16
3.4.4.	Viabilidad del polen.	17
3.4.5.	Germinación del polen in vitro.	18
3.4.6.	Genotécnia polinización.	18
3.5.	Pesticidas.	18
3.5.1	Fungicidas convencionales.	19
3.5.2	Pesticidas ecológicos.	21
3.5.2.1.	Metalsulfoxilate 200 i.a.g/L (Kriphón. PM.).....	21
3.5.2.2.	Hidroximetil Alquil Dimetil N (Excelent, LS).....	21
3.5.2.3.	Metal tio sulfato – N. (Mil Agro).	22
3.5.2.4.	Extracto de Reysa (Milsana).	22
3.5.2.5.	Boscalid (Cantus WG.).....	22
3.5.2.6.	Ácido-sulfinico-hidroximetano-Amonio-dimetil -alquil- bencil (Fungbacter (SL)).....	23
3.5.3	Insecticidas biológicos.....	23
3.5.3.1.	Metarhizium anisopliae (Metazeb PM).	23
3.5.3.2.	Beauveria bassian (Beauveb PM).....	24
3.5.3.3.	Lecanicillium lecanii (Lecaniceb PM).	24
3.5.3.4.	Paecilomyces fumosoroseus (Myceb).....	25
3.5.3.5.	Azadirachtin (Aceite de Nim 1%).....	25
3.5.3.6.	Bacillus thuringiensis.....	25
	CAPÍTULO IV	27
	MATERIALES Y MÉTODOS	27
4.1	Ubicación del ensayo	27
4.2	Metodología específica relacionada con la investigación.....	27
4.3	Primera fase: Caracterización morfológica del grano de polen	28

4.3.1	Recolección de flores de mora de Castilla y tomate de árbol.....	28
4.3.2	Extracción de polen.....	28
4.3.3	Factores en estudio.....	29
4.3.4	Soluciones nutritivas para la germinación de polen.	29
4.3.5	Siembra del grano de polen en el medio de cultivo.....	29
4.3.6	Prueba de viabilidad del polen.	30
4.3.7	Análisis estadístico.....	30
4.3.8	Características de la unidad experimental.	30
4.3.9	Diseño experimental.	30
4.3.9.1	Análisis de medios de cultivo.	31
4.3.9.2	Variables en estudio.....	31
4.3.9.3	Tamaño del grano de polen.	31
4.3.9.4	Caracterización morfológica del polen.	32
4.3.9.5	Viabilidad del polen.	32
4.3.9.6	Germinación del polen in vitro.....	33
4.3.9.7	Forma.....	33
4.3.9.8	Color.....	33
4.3.9.9	Dimensiones del tubo polínico.	34
4.3.9.10	Microscopia electrónica del grano de polen.	34
4.4	Segunda fase: Efecto de la aplicación de pesticidas sobre la GGP	36
4.4.1	Factores en estudio del efecto de los pesticidas en el PGGP.....	36
4.4.2	Pesticidas.....	36
4.4.3	Tratamientos.	36
4.4.4	Diseño experimental.	37

4.4.5	Características de la unidad experimental.....	38
4.4.6	Análisis estadístico.....	38
4.4.7	Esquema del análisis de variancia.....	39
4.4.8	Análisis funcional.....	39
4.4.9	Variables y metodología de evaluación.....	39
4.4.9.1.	Número de granos bien formados.....	39
4.4.9.2.	Número de granos de polen dañados.....	40
4.4.9.3.	Número de granos de polen germinados.....	40
4.4.9.4.	Longitud de granos germinados.....	40
4.4.9.5.	Ancho de tubo polínico.....	40
CAPÍTULO V		42
RESULTADOS Y DISCUSIÓN		42
5.1	Resultados de la primera fase.....	42
5.1.1.	Recolección de flores de mora de Castilla y tomate de árbol.....	42
5.1.2.	Determinación de la forma del grano de polen de mora de Castilla y tomate de árbol.....	42
5.1.3.	Determinación de dimensiones del tubo polínico.....	44
5.1.4.	Determinación de la solución nutritiva para permitir la germinación del polen.....	45
5.1.5.	Tomate de árbol.....	46
5.2	Resultados de la segunda fase	48
5.2.1	Mora de Castilla.....	48
5.2.1.1	Porcentaje de germinación de los granos de polen.....	48
5.2.1.2	Germinación 2 horas.....	50
5.2.1.3	Germinación 4 horas.....	52
5.2.1.4	Germinación 6 horas.....	53

5.2.1.5	Mora: tubo polínico.....	55
5.2.2	Tomate de árbol.....	56
5.2.2.1	Porcentaje de germinación del grano de polen.....	56
5.2.2.2	Germinación 2 horas.....	58
5.2.2.3	Germinación 4 horas.....	60
5.2.2.4	Germinación 6 horas.....	62
5.2.2.5	Tomate de árbol Tubo polínico.....	64
CAPÍTULO VI		66
CONCLUSIONES		66
6.1	Mora de Castilla	66
6.2	Tomate de árbol.....	67
CAPÍTULO VII		71
RECOMENDACIONES.....		71
BIBLIOGRAFÍA		72
ANEXOS.....		77

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.	Variables dependientes e independientes del efecto de pesticidas en el GP en mora de Castilla y de tomate de árbol.....	6
Cuadro 2.	Tipos de polen en función con su tamaño.	16
Cuadro 3.	Diseño completamente al azar.....	31
Cuadro 4.	Tratamientos químicos, ecológicos e insecticidas biológicos.....	36
Cuadro 5.	Tratamientos, grupo, código, descripción y dosis de la investigación. (EPA. 2011).....	37
Cuadro 6.	Diseño Análisis Grupal.....	39
Cuadro 7.	Análisis de variancia de los datos de PGGP de mora de Castilla con las soluciones nutritivas.....	45
Cuadro 8.	Prueba de Tukey 5% para el PGGP en mora de Castilla en la Determinación de las soluciones nutritivas.....	46
Cuadro 9.	Porcentaje de germinación del polen de mora y tomate de árbol.....	46
Cuadro 10.	Datos obtenidos en la prueba de Tukey del PGGP de tomate de árbol en las soluciones nutritivas.	47
Cuadro 11.	Análisis de variancia del PGGP de mora de Castilla bajo el efecto de productos fúngicos.	49
Cuadro 12.	Efecto de productos fúngicos sobre el PGGP de mora de Castilla en evaluaciones a las 2, 4 y 6 horas	49
Cuadro 13.	Prueba de homogeneidad de varianzas de Barlett.	50
Cuadro 14.	Comparación entre tratamientos a las 4 horas de estar en contacto con los pesticidas en la germinación del polen.	52
Cuadro 15.	Prueba de homogeneidad de varianzas de Barlett.	54
Cuadro 16.	Rangos de significación en Mora de Castilla para los tratamientos.	55
Cuadro 17.	Análisis de variancia del PGGP de tomate de árbol bajo el efecto de productos fúngicos.	57

Cuadro 18. Efecto de productos fúngicos sobre el PGGP de tomate de árbol en evaluaciones a las 2, 4 y 6 horas.....	58
Cuadro 19. Rangos de clasificación de los tratamientos sobre la GGP de tomate de árbol a las 2 horas de estar en contacto.	59
Cuadro 20. Rangos de clasificación de los tratamientos sobre la GGP de tomate de árbol a las 4 horas de estar en contacto.	61
Cuadro 21. Rangos de clasificación de los tratamientos sobre la GGP de tomate de árbol a las 6 horas de estar en contacto.	63
Cuadro 22. Rangos de clasificación de los tratamientos sobre la GGP de tomate de árbol a las 6 horas de estar en contacto.	64

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1.	Matriz del marco lógico de la causa y efecto de la aplicación de pesticidas	5
Gráfico 2.	Flor de mora de Castilla	9
Gráfico 3.	Flor de tomate de árbol en etapa de corona (Antesis).....	11
Gráfico 4.	Ciclo biológico de la GGP y fecundación del ovulo.	12
Gráfico 5.	Grano de polen bicelular, formación de la célula generativa.	13
Gráfico 6.	Estratificación de la esporodermis del grano de polen.	14
Gráfico 7.	Formas del grano de polen.....	15
Gráfico 8.	Vista Polar <i>Rubus ulmifolius</i> (V) (G 3000 X).....	16
Gráfico 9.	Polen de tomate de árbol teñido con acetocarmín al 1%	33
Gráfico 10.	Microscopía electrónica de barrido de granos de polen de mora de Castilla y de tomate de árbol.	35
Gráfico 11.	Flor de mora de Castilla (<i>Rubus glaucus</i>) en corona (Antesis).....	42
Gráfico 12.	Polen de mora de Castilla (<i>Rubus glaucus</i>) germinado.....	43
Gráfico 13.	Polen de tomate de árbol (<i>Solanum betaceum</i> Cav) germinado.....	43
Gráfico 14.	Polen germinado y exina visible	44
Gráfico 15.	Grano de polen de mora de Castilla tricolpado.....	44
Gráfico 16.	Porcentaje de germinación de los granos de polen de mora de Castilla en las soluciones nutritivas.	46
Gráfico 17.	Comparación del coeficiente de variación en el porcentaje de evaluación entre mora de Castilla y tomate de árbol	47
Gráfico 18.	PGGP de tomate de árbol de acuerdo a la solución nutritiva.	48
Gráfico 19.	Efecto de los tratamientos en el PGGP de mora de Castilla al permanecer por 2, 4 y 6 horas en contacto con los pesticidas.....	49

Gráfico 20.	Comportamiento de los productos convencionales, biológicos y ecológicos en el PGGP de mora de Castilla a las 2 horas.	51
Gráfico 21.	Comportamiento de los productos Convencionales, biológicos y ecológicos en el PGGP de mora de Castilla a las 4 horas.	53
Gráfico 22.	Comportamiento de los en el PGGP de mora de Castilla a las 6 horas.	55
Gráfico 23.	Efecto de los pesticidas sobre el PGGP de mora de Castilla (<i>Rubus glaucus</i>) en evaluaciones a los 2, 4 y 6 horas.....	56
Gráfico 24.	Efecto de los grupos de plaguicidas sobre el PGGP de tomate de árbol (<i>Solanum betaceum Cav</i>) en evaluaciones a los 2, 4 y 6 horas.....	58
Gráfico 25.	Ordenamiento de los tratamientos según su eficacia y daño en el PGGP a las 2 horas de transcurrido su contacto.	60
Gráfico 26.	Ordenamiento de los tratamientos según su eficacia y daño en el PGGP a las 4 horas de transcurrido su contacto	62
Gráfico 27.	Eficacia y poco daño de los tratamientos según el PGGP a las 6 horas de transcurrido su contacto.	64
Gráfico 28.	Efecto de los pesticidas en el crecimiento del tubo polínico en el tomate de árbol.	65

ANEXOS

ANEXO A.- Principales plagas en el cultivo de mora (*Rubus glaucus* Berth)

ANEXO B. Principales plagas que afectan al cultivo de tomate de árbol (*Solanum vetacium* Cav)

ANEXO C. Fotos de la investigación.

ABREVIATURAS

GP	Germinación del polen
GGP	Germinación del grano de polen
PGGP	Porcentaje de germinación del grano de polen
ppm	Partes por millón
µm	milimicras
TM	Toneladas métricas
ha	hectáreas
kg	kilogramos
TP	Tubo polínico

RESUMEN

Se estudió el efecto de la aplicación de plaguicidas sobre la morfología, viabilidad y germinación de los granos de polen de la mora de Castilla (*Rubus glaucus* Benth) y del tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.) en Patate, provincia de Tungurahua. El estudio se dividió en dos fases: 1) dedicada al estudio de la morfología, viabilidad y de una solución nutritiva para lograr una mejor germinación; 2) análisis del efecto de 3 grupos de plaguicidas convencionales, ecológicos y biológicos. En la primera fase para determinar la morfología se extrajo el polen mediante presión manual y fue analizado en el microscopio. Se observó polen viable que se tiñe de rojo con acetocarmín al 1%, y el no viable permanece incoloro. El polen de la mora de Castilla y de tomate de árbol morfológicamente es parecido y se diferencia uno de otro por la arquitectura de la exina. La solución nutritiva, (sacarosa con ácido bórico), fue cuatro veces más efectiva que el testigo agua en la germinación. En la segunda fase, a la solución nutritiva se adicionó el plaguicida en estudio. Luego de 2, 4 y 6 horas a 28°C la inducción de germinación del polen de mora de Castilla siguió el siguiente orden Metazeb = Lecaniceb >> Beuveri > Myceb.> Testigo. El efecto de inhibición de la germinación del grano de polen causado por el plaguicida en tomate de árbol es: *Lecanicillium lecanii* > *Paecilomyces fumosoreoseus* > Cantus > *Bacillus thuringiensis* > Kripton > Testigo. Los productos convencionales mencionados no permitieron la germinación del grano de polen a diferencia de los biológicos y Testigo.

PALABRAS CLAVES: POLEN DE TOMATE Y MORA, MORFOLOGÍA, VIABILIDAD, EFECTOS DE PLAGUICIDAS.

ABSTRACT

The effect of the application of pesticides on the morphology, viability and germination of pollen grains of blackberry (*Rubus glaucus* Benth) and studied tree tomato (*Solanum betaceum* Cav.) In Patate, Tungurahua province. The study was divided into two phases: 1) dedicated to the study of the morphology, viability and nutrient solution for better germination; 2) analysis of the effect of 3 groups of conventional, organic and biological pesticides. In the first stage to determine the morphology pollen it was extracted by hand pressure and was analyzed under the microscope. Viable pollen that turns red with acetocarmin 1%, and remains colorless nonviable observed. Mulberry pollen of Castile and tree tomato is morphologically similar and differ from each other by the architecture of the exine. The nutrient solution (sucrose with boric acid) was four times more effective than the control water in germination. In the second phase, the nutrient solution was added the pesticide under study. After 2, 4 and 6 hours at 28 ° C inducing pollen germination mulberry Castilla followed the following order Metazeb = Lecaniceb >> Beuveri> Myceb.> Witness. The effect of inhibiting the germination of pollen grains caused by the pesticide tree tomato is Lecanicillium lecanii> Paecilomyces fumosoreoseus> Cantus> Bacillus thuringiensis> Krypton> Witness. The aforementioned conventional products not allow the germination of pollen grains unlike biological and Witness.

KEYWORDS: POLLEN TOMATO AND BLACKBERRY, MORPHOLOGY, VIABILITY, EFFECTS OF PESTICIDES.

INTRODUCCIÓN

Las especies frutales en Ecuador tienen diferente grado de desarrollo pero mantienen un importante potencial en el área andina. Los cultivos se realizan en condiciones muy rústicas sin condiciones técnicas en las que se podría mejorar su calidad y rendimiento.

La mora de Castilla y el tomate de árbol poseen una demanda importante para su comercialización en varios países a nivel mundial, pero requiere que se realicen investigaciones agronómicas para un manejo racional de plagas, así como del desarrollo de tecnologías de calidad que impulse y facilite el cultivo. En Ecuador existen 5.247 ha cultivadas de mora, en 14.546 unidades productivas, en manos de pequeños productores, con un tercio de hectárea en promedio, el bienestar de muchas familias depende de su cultivo. El INEC (2011) reporta que en el país existieron 4.233 ha de tomate de árbol en plantación pura y asociadas 229 ha, con una producción de 12.260 y 327 TM respectivamente y para el 2012 el INEC reportó que existen 4.280 ha sembradas con una producción de 11.027 TM.

El cultivo de tomate de árbol es más productivo durante los 3 primeros años, alcanza rendimientos entre 40.000-50.000 kg/ha/año. En la actualidad varias instituciones, sobre todo las Universidades están realizando esfuerzos para generar tecnología, con enfoque ecológico para potencializar la posibilidad de exportación de éste interesante fruto andino. (Soria, Tecnología del cultivo de tomate de árbol en línea consultado octubre 2012, 2009)

La producción de Mora de castilla y de tomate de árbol es una fuente de ingresos para el productor de frutas andinas en la provincia de Tungurahua, pero la presencia de plagas ha obligado al uso de pesticidas para su control debido a que estos son los causantes de la disminución del rendimiento.

El cultivo de frutales andinos se constituye por el uso de pesticidas en uno de los riesgos en el manejo de productos convencionales, ecológicos y biológicos

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

1.1 Tema.

El efecto de pesticidas convencionales, ecológicos y biológicos sobre la viabilidad del polen en mora de castilla y tomate de árbol.

1.1.1. Planteamiento del problema.

La floración y amarre de frutos es un proceso fisiológico delicado, en el cual se estima que los pesticidas pueden afectar la viabilidad y germinación de los granos de polen, en las dos especies estudiadas, causando pérdidas económicas y bajos rendimientos.

1.1.2. Análisis crítico.

La producción de mora de Castilla y de tomate de árbol es una fuente de ingresos para el productor de frutas andinas en la provincia de Tungurahua, pero la presencia de plagas obliga a que los fruticultores hagan uso de pesticidas para su control, debido a que estos son los causantes de la disminución del rendimiento.

De los pesticidas utilizados en el control de estas plagas se desconoce el efecto que causen al momento de la fecundación del grano de polen al óvulo, ya que son utilizados por su alta eficacia en el control de hongos e insectos que atacan a estos cultivos, pero que pasa con el cuajado de los frutos durante su aplicación.

Una de las opciones para que no se disminuya el cuajado de la fruta es que el agricultor conozca las bondades de cada producto después de la aplicación para que de esta manera tenga una mejor producción.

“Los huertos de mango variedad “Ataúlfo” después de más de cuarenta años de desarrollo, han disminuido su producción de 15 toneladas a menos de 4 toneladas ya que están siendo afectados por problemas de biología reproductiva al no tener un buen prendimiento de flores y amarre de frutas” (Gehrke & Malc, 2008). “Este investigador, en el 2011 caracterizó la morfología del grano de polen del mango “Ataúlfo” en México, analizando su viabilidad y germinación in vitro e in vivo, así como la tasa y velocidad de crecimiento del tubo polínico (TP) para detectar disfunciones en el proceso de polinización que genera falta de amarre y producción de mangos”.

1.1.3. Diagnósis.

Los granos de polen representan las esporas sexuales masculinas de las Pteridofitas. Salen de los estambres cuando están maduros, y son transportados por el viento o por insectos (polinización), llegan a los órganos femeninos, germinan y los polinizan al introducir en el pistilo el tubo polínico y ponerse en contacto con los óvulos.

Dada la importancia de los cultivos de mora de Castilla y de tomate de árbol, en la zona andina, para aquellos agricultores de diversas provincias y la información de la producción en los que claramente se anuncia la disminución del rendimiento por efecto de plagas, obliga a la utilización de pesticidas, pero no se sabe que repercusión tiene sobre el cuajado de los frutos, y su rendimiento razón por la cual es imperioso realizar un diagnóstico del efecto que causan estos pesticidas sobre el rendimiento.

1.1.4. Trabajos similares.

El control de plagas que afectan al cultivo de uvilla implica el uso de pesticidas químicos, ecológicos y biológicos de alta persistencia que afectan la fecundación de las flores. En estudios realizados por (Soria, Influencia de pesticidas sobre la germinación de granos de polen en el

tomate de árbol *Cyphomandra betacea* SENT, 1996) y (Ricaurte, 1999) en el tomate de árbol se demostró que, pesticidas químicos dañan y bajan el porcentaje de polinización, y por ende la fecundación, el amarre del fruto y rendimiento de la planta. La aplicación de fungicidas cúpricos en aguacate utiliza para el control del Stem end-rot, enfermedad provocada por un complejo de hongos, que se aloja primeramente en las flores. Existen antecedentes que el cobre, usado en forma de sal cúprica, es polinizada. (Arrendondo & S, 2008)

1.1.5. Formulación del problema.

La presencia de plagas en los cultivos de mora de Castilla y de tomate de árbol ocasionan grandes pérdidas económicas a los agricultores que se dedican a este cultivo, razón por la cual tienen que hacer uso de diferentes plaguicidas para su control. Durante la aplicación de pesticidas las plantas se encuentran en diferentes estadios de floración y se desconoce la manera que influyen los pesticidas convencionales, ecológicos e insecticidas biológicos en la germinación del grano de polen de mora de Castilla y tomate de árbol.

La fecundación es de por sí un proceso biológico complicado, relacionado con factores externos como insectos y condiciones climáticas, o internos como las condiciones de la planta o la compatibilidad del polen. (Palazón, Palazón, & Balduque, 1991)

1.2 Justificación

La producción de frutas en la zona andina tiene una gran importancia económica para muchos agricultores, como fuente de ingresos para el sustento de las familias. La floración y amarre de frutas es un proceso fisiológico, en el cual se estima que el uso de pesticidas, puede afectar la viabilidad y germinación de los granos de polen en las especies estudiadas.

1.3 Objetivo

1.3.1 Objetivo general.

Estudiar los efectos de la aplicación de fungicidas convencionales (químicos), ecológicos e insecticidas biológicos, en la morfología, germinación y viabilidad de los granos de polen en mora de Castilla (*Rubus glaucus* Benth) y tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav).

1.3.2 Objetivos específicos.

- Determinar el efecto de fungicidas ecológicos, convencionales e insecticidas biológicos sobre la germinación de los granos de polen en mora de Castilla y tomate de árbol en lo concerniente a: Identificar cambios en la morfología (forma, color, tamaño y longitud del tubo polínico) del grano de polen.
- Determinar la viabilidad de los granos de polen de mora de Castilla y tomate de árbol.
- Establecer la inocuidad de los fungicidas convencionales, ecológicos e insecticidas biológicos en la viabilidad y cambios morfológicos en los granos de polen.
- Comunicar a los productores frutícolas los resultados obtenidos mediante la elaboración de un boletín divulgativo, en el que se indique cuáles son los pesticidas que no afectan la morfología de los granos de polen y por ende la producción.

CAPÍTULO II

MATRIZ DE MARCO LÓGICO

2.1 Metas

Generar conocimientos eficaces y eficientes amigables con el ambiente para mejorar el ingreso de los productores, en un marco de sostenibilidad relacionadas con la productividad de los frutales de mora de Castilla y tomate de árbol, de que no afecten la germinación del polen.

Causas y efecto

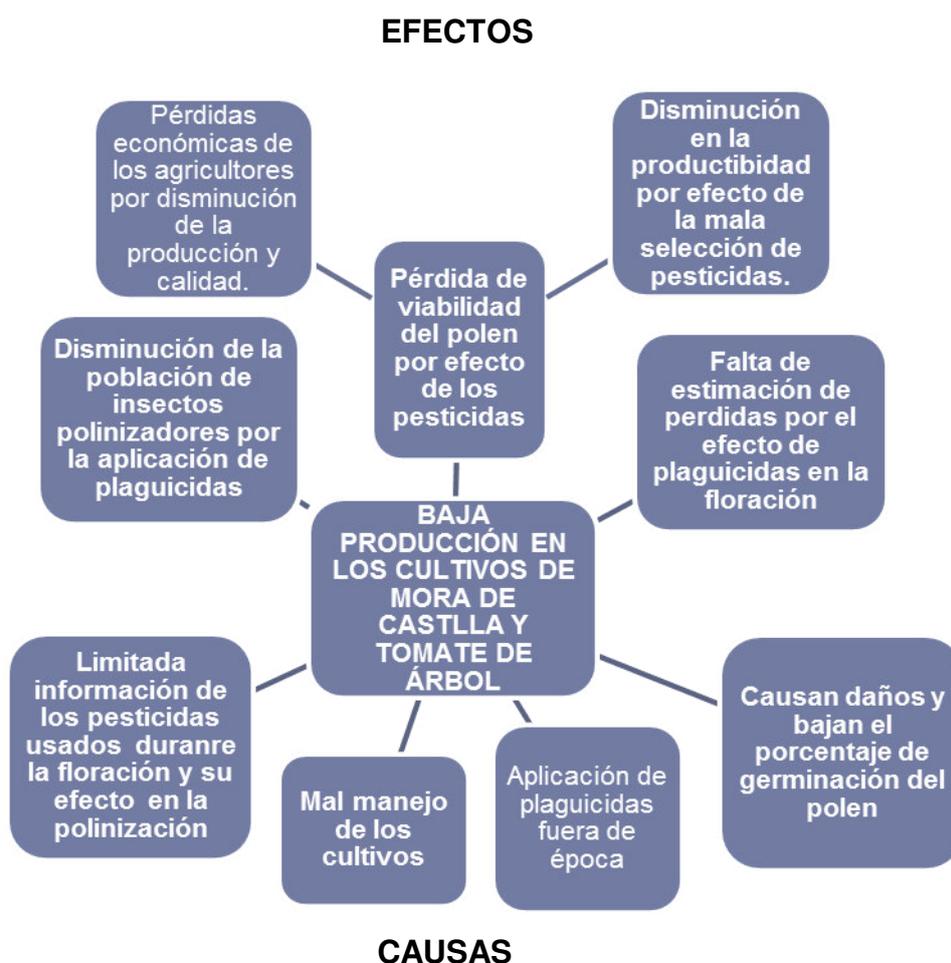


Gráfico 1. Matriz del marco lógico de la causa y efecto de la aplicación de pesticidas

2.2 Matriz de variables

Cuadro 1.

Variables dependientes e independientes del efecto de pesticidas en el GP en mora de Castilla y de tomate de árbol.

VARIABLES DEPENDIENTE	CONCEPTO	INDICADOR	MEDIO DE VERIFICACIÓN
Efecto de los pesticidas en el grano de polen.	El grano de polen es la espora sexual masculina de las pteridofitas.	Medios de identificación. 1. Muestreo de flores en diferentes fases fenológicas: antes, durante y después de la antesis. 2. Pruebas de germinación.	1.1. Determinación del % de polen viable. 1.2. Definir el medio de cultivo adecuado. 2.1. Siembra de polen en medio de cultivo adecuado.
VARIABLE INDEPENDIENTE	CONCEPTO	INDICADOR	MEDIO DE VERIFICACIÓN
Uso de pesticidas convencionales, biológicos y ecológicos.		1. Aplicación de pesticidas. 2. Incubación de tratamientos.	1.1. Verificación del % de germinación de acuerdo al pesticida. 1.2. Evaluación del efecto de los pesticidas a las 2,4 y 6 horas de la aplicación.
Variable dependiente Vs Independiente.		Morfología del grano de polen.	Uso de microscopia para su identificación.
Efecto de los pesticidas en la morfología del grano de polen.		1. Tamaño del polen. 2. Largo y ancho del tubo polínico. 3. Color del tubo polínico.	3.1. Evaluación de la forma. 3.2. Tamaño del grano de polen. 3.3. Largo y ancho del tubo polínico. 3.4. Tipo de cubierta. 3.5. Diferencia de color por acción de los pesticidas

2.3 Hipótesis

Fase 1.

- H0- El medio de cultivo no incide sobre la germinación del grano de polen.
- H1+ El medio de cultivo sí incide sobre la germinación del grano de polen.
- H0- El estado fenológico de floración no incide sobre la viabilidad del grano de polen.
- H1+ El estado fenológico de floración sí incide sobre la viabilidad del grano de polen.

Fase 2.

- H1- La aplicación de fungicidas convencionales, ecológicos e insecticidas biológicos afectan la morfología, germinación y viabilidad de los granos de polen en los cultivos de mora de Castilla y tomate de árbol.
- H0- La aplicación de fungicidas convencionales, ecológicos e insecticidas biológicos no afectan la morfología, germinación y viabilidad de los granos de polen, en los cultivos de mora de Castilla y tomate de árbol.

CAPÍTULO III

LITERATURA DE REFERENCIA

3.1 Mora de Castilla (*Rubus glaucus* Benth).

3.1.1. Origen.

La mora de Castilla (*Rubus glaucus*) descubierta por Hartw y descrita por Benth, originaria de América tropical principalmente en Colombia, Ecuador, Panamá, Guatemala, Honduras, México y Salvador. (INCAP; FAO, 1992)

3.1.2. Variedades.

El género *Rubus* es uno de los de mayor número de especies en el reino vegetal. Se encuentran diseminadas en casi todo el mundo excepto en las zonas desérticas (Angelfire, 2001). En Ecuador es la mora de Castilla (*Rubus glaucus*), que representa el 95%. Otros cultivares son mora criolla (*Rubus floribundus*) “mora silvestre” (*Rubus adenotrichus*), “Ollalie” (*Rubus occidentalis*) y “Brazos” (*Rubus ollalie*) . Las principales zonas productoras en Ecuador son las provincias de Cotopaxi, Tungurahua, Chimborazo Bolívar, Imbabura y Pichincha. (PAVUC, 2008)

3.1.3. Características biológicas de la mora de Castilla.

3.1.3.1. Descripción botánica.

Planta de vegetación perenne, de porte arbustivo, semierecta, conformada por varios tallos espinosos que crecen hasta tres metros. Las hojas tienen tres folíolos, ovoides de 4 a 5 cm de largo con espinas

ganchudas. Los tallos son espinosos. En la base de la planta se encuentra la corona de donde se forman los tallos, la cual está conformada por una gran cantidad de raíces superficiales. (Angelfire, 2001)

3.1.3.2. *Las inflorescencias.*

Se presentan en racimos terminales, aunque en ocasiones se ubican en las axilas de las hojas. Flores compuestas y actinomorfas, pentámeras y periginas, es decir con el cálamo elevado en sus bordes alrededor del gineceo. formando un recipiente a modo de copa que lleva inserto en lo alto los sépalos, pistilos y estambres. (Ruiz, 2007)

3.1.3.3. *Las flores.*

La formación del botón floral depende de las condiciones ambientales que favorecen la fructificación durante casi todo el año. La fórmula floral de la mora es: $K_5 - C_5 - A_5 - 00 - Gi - Or$.



Gráfico 2. Flor de mora de Castilla

3.2 El tomate de árbol (*Solanum betaceum Cav*)

3.2.1. Origen.

El tomate de árbol es una especie nativa de los Andes, cuya domesticación y cultivo son anteriores al descubrimiento de América. De las diferentes denominaciones, la más usada es tomate de árbol (Ecuador y

Colombia); además berenjena, “sacha tomate”, “yunca tomate”, “tomatillo” (Perú); “lima tomate”, “tomate de monte”, “tomate de La Paz” (Bolivia, Argentina); y en inglés: “tamarillo”, “tree tomato”. (Debrot, Arnal, Solorsano, & Ramoa, 2005)

3.2.2. Variedades.

El tomate de árbol (*Cyphomandra betaceae* Cav) es originario de América del Sur: Colombia, Ecuador, Perú. “En Colombia, se reconocen los tomates: rojo y amarillo común, amarillo redondo, partenocarpico y rojo morado, En estudios moleculares, demostraron que el género *Cyphomandra* está comprendido dentro del género *Solanum*, en razón de ello su clasificación taxonómica ha sido cambiada, transfiriendo el género *Cyphomandra* y todas sus especies a *Solanum*”. (Tobon & Vasquez, 1998)

3.2.3. Características biológicas del tomate de árbol.

3.2.3.1. Descripción botánica.

Es un árbol pequeño de 2 a 3 m de alto, tallo único, monopodial, ramificado a la altura de 1 a 1,5 m en dos o tres ramas. En la rama se repite el mismo modelo de ramificación. Las hojas son cordiformes, de 17 a 30 cm de longitud, alternas, enteras, en los extremos de las ramas, con pecíolo robusto de 4 a 8 cm de longitud. El limbo presenta de 15 a 30 cm de longitud, con forma ovalada, acuminado, de color verde oscuro, un poco áspero al tacto. (De La Cadena & Orellana, 1984)

3.2.3.2. Flores.

Son pequeñas, de 1,3 a 1,5 cm de diámetro, de color blanco-rosáceo, dispuestas en pequeños racimos terminales. Tienen 5 pétalos y 5 estambres amarillos. Floración continúa durante todo el año. El cáliz compuesto por 5 sépalos que protegen a los pétalos y que persistente en el fruto, corola blanco-rosada, campanulada con los ápices reflexos, estambres conniventes, más cortos que la corola, anteras amarillas, dehiscentes por dos poros apicales, estilo emergente entre las anteras.



Gráfico 3. Flor de tomate de árbol en etapa de corona (Antesis)

3.3. Biología floral del polen.

3.3.1. Descripción botánica del polen.

La palabra “polen” procede del latín “pollen-inis”, que significa “flor de la harina” o “polvo muy fino” y, aunque el polen ya era conocido como alimento desde la más remota antigüedad, hasta el siglo XIX en que el médico inglés Charles Blackley lo relacionó con un tipo de catarro conocido como “fiebre del heno”, no se hicieron estudios profundos sobre el mismo. Los granos de polen son partículas fecundantes con potencialidad masculina, necesarios para la reproducción de las plantas superiores ya que su misión es la de fecundar a los óvulos para dar lugar a la formación de semillas y asegurar, así, la continuidad de la especie. (Jaramillo & Mar, 2011)

El desarrollo del grano de polen es un proceso regulado a nivel génico que conduce a la formación de un organismo haploide, el gametofito

masculino o grano de polen, cuyas células poseen una alta especialización, necesaria para su importante función en la germinación del tubo polínico y doble fecundación de las plantas con flores, como se observa en el gráfico 4.

3.3.2. Estructura de un grano de polen.

Las plantas con flores tienen dos gametofitos (androceo y gineceo). (Solís, Testillano, Almeida, & Sancho, 2012)

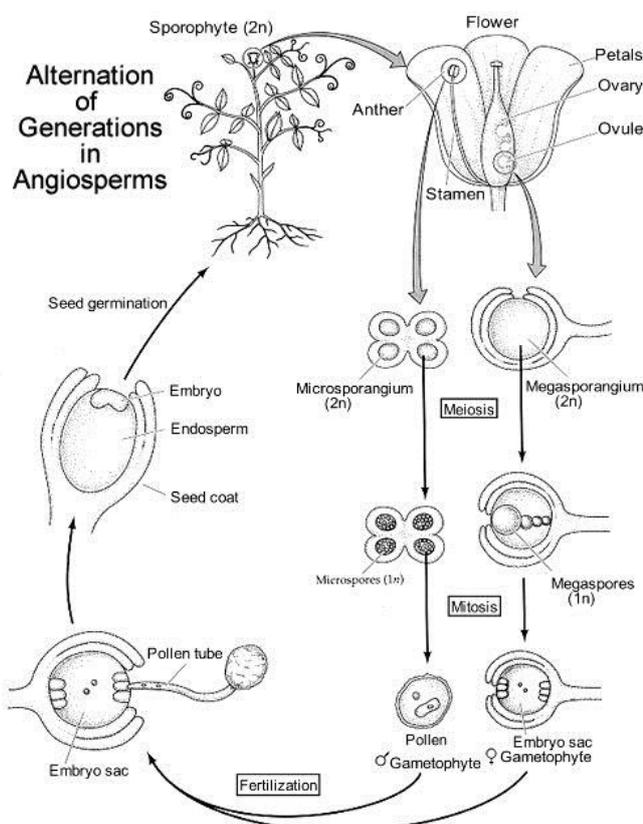


Gráfico 4. Ciclo biológico de la GGP y fecundación del óvulo.

FUENTE: http://www.unavarra.es/genmic/genetica%20y%20mejora/genetica_y_mejora_vegetal.htm

El androceo formado por los estambres, compuestos por filamentos y antera. La antera es la parte fértil, constituida por dos tecas. Cada teca posee dos sacos polínicos o microsporangios, en cuyo interior se encuentran las células madres de las microsporas, con una dotación

genética diploide ($2n$), que al dividirse por meiosis forman una tétrada, conjunto de cuatro microsporas haploides (n) que darán lugar a los granos de polen o célula espermática

En la polinización, el polen sale de la antera y llega al estigma y germina desarrollando el tubo polínico, que crece a través del estilo, dirigiéndose a los óvulos. En el interior del grano de polen la célula generativa se divide en dos células espermáticas. Unas células espermáticas viajan a lo largo del tubo polínico hasta alcanzar el gameto femenino y penetra por el micrópilo, crece en el interior del saco embrionario, cierran la ovocélula y descarga allí su contenido, el núcleo espermático (n) para fusionarse con la ovocélula (n) formando el cigoto ($2n$) que desarrollará la futura generación esporofítica, formando un embrión. El segundo núcleo espermático (n) o gameto masculino se unen a los dos núcleos polares (n) de la célula central del saco embrionario, produciendo tejido nutritivo triploide ($3n$), denominado endospermo, tejido de reserva para crecimiento del embrión. (Gonzales & Arbo, 2013)

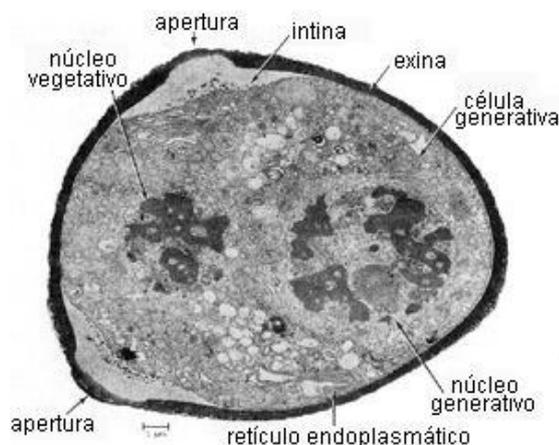


Gráfico 5. Grano de polen bicelular, formación de la célula generativa.

FUENTE: <https://www.biologia.edu.ar/botanica/tema22/tema22-9polen.htm>

3.3.3. Como se opera en varias especies para recolectar polen.

Las flores de mango “Ataúlfo” extraídas de las panículas escogidas al azar se analizaron, para determinar posibles diferencias en las características entre tipos de flor y de polen, antes y después de antesis” (Gehrke & Malc, 2008). Se depositaron las flores en cajas de Petri con un medio nutritivo para evitar su deshidratación durante la extracción y observación del polen. Se procedió a extraer el polen de los estambres frescos antes de la dehiscencia, abriendo el saco polínico y removiendo los granos de polen con agujas de disección.

3.4. Caracterización morfológica del polen

3.4.1. El polen morfología, estructura y diversidad.

El polen maduro presenta una morfología bien definida que permite la identificación de la planta de la cual procede. La pared del polen, constituida por dos partes: “la célula viva que tiene una vida corta” y la “esporodermis” o pared externa, cuya función es la protección del protoplasma celular, mediante la impermeabilización y la resistencia a la degradación físico-química y biológica. Para su estudio hay que tener en cuenta su “estratificación” y su “ornamentación” de (Fernández & De Castro, 2008)

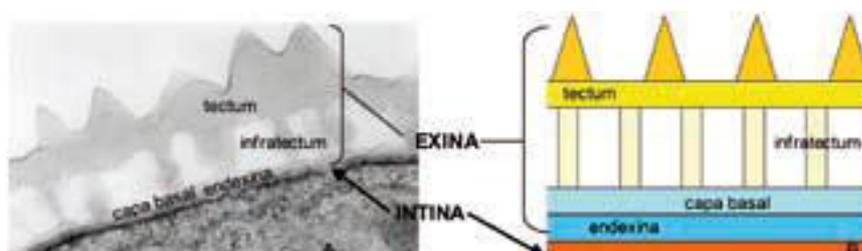


Gráfico 6. Estratificación de la esporodermis del grano de polen.

- A) Fotografía de la pared del polen de *Parietaria judaica*
B) Esquema

FUENTE: <http://www.saludcastillayleon.es/institucion/es/publicaciones-consejeria/buscador/aerobiologia-polinosis-castilla-leon>

Estratificación: La esporodermis formada por varios estratos que difieren por sus caracteres químicos, morfológicos y ontogénicos. Consta de

dos capas, una interna, la intina que rodea al protoplasma celular, y otra externa que rodea al grano de polen, llamada “*exina*”. La Exina es la capa externa y resistente de la pared del polen. Soportando la acción de los ácidos y bases concentrados. Alterada únicamente por algunas sustancias oxidantes y por ciertos microorganismos. Su componente químico es la esporopolenina, formada por la polimerización de carotenos y ésteres oxidados. La exina consta a su vez de dos capas: ectexina (externa) y endexina (interna).

Intina. La intina es la capa más interna de la pared del grano de polen. Sus componentes principales celulosa, pectinas y glucoproteínas. No es resistente a los ácidos y se destruye fácilmente con la acetólisis. (Fernández & De Castro, 2008)

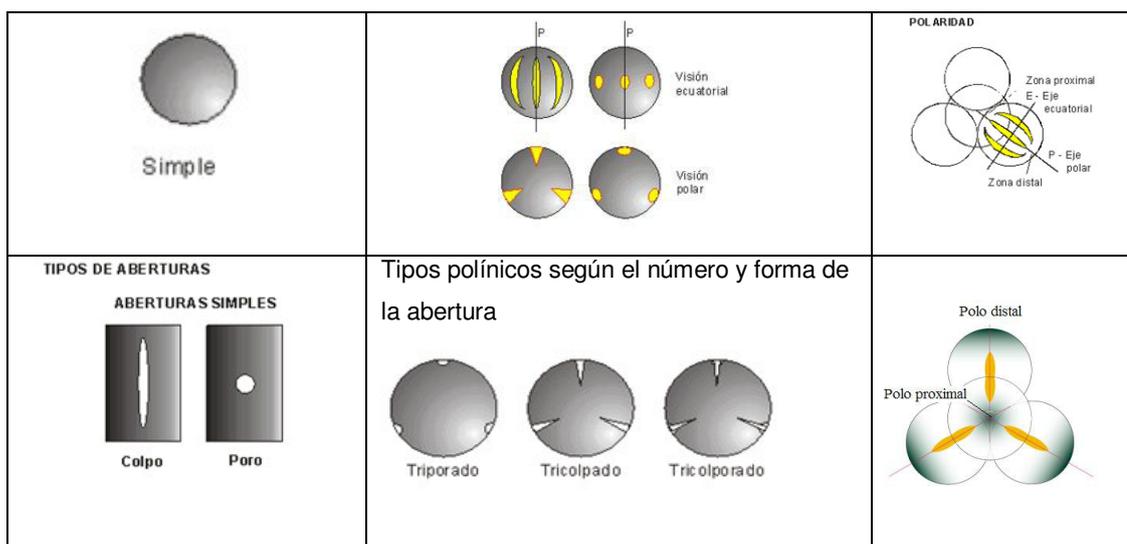


Gráfico 7. Formas del grano de polen

FUENTE: <http://www.saludcastillayleon.es/institucion/es/publicaciones-consejeria/buscador/aerobiologia-polinosis-castilla-leon>

La morfología de los granos de polen extraídos de las anteras, y colocados en un portaobjetos y teñidos con acetocarmín 1% para examinar con la ayuda de un microscopio de contraste de fases marca VELAB Mod.VE-B3 con objetivos 10× y 40×. (Gehrke & Malc, 2008)

Cuadro 2.
Tipos de polen en función con su tamaño.

Medida del eje mayor (μm)	Denominación del polen
<10	Muy pequeño
10-25	Pequeño
25-50	Mediano
50-100	Grande
100-200	Muy grande
>200	Gigante

Fuente: Valdés et al (1987).

3.4.2. Polaridad de granos de polen.

Los granos de polen isopolares tienen iguales los polos proximal y distal, con lo que el plano ecuatorial es un plano de simetría. En los granos de polen heteropolares las mitades proximal y distal son diferentes.

3.4.3. Morfología del polen según el género y la especie.

Rubus ulmifolius . Polen 3-sonocolpado, isopolar, radioasimétrico; en visión ecuatorial, elíptico; en visión polar, semiangular; semierecto; tamaño pequeño; ectoaperturas tipo colpo, endoaperturas tipo poro, alargado, de dos a cinco μm , en posición ecuatorial; ; exina de aproximadamente 1,7 μm de grosor, superficie vermiculada. (Gonzales & Candau, 1989)

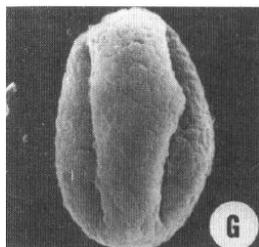


Gráfico 8. Vista Polar *Rubus ulmifolius* (V) (G 3000 X)

FUENTE: Gonzales, & Candau, P. (1989). Contribucion a la palinologia de Rosaceae . *Acta Botánica Malacitana*, 14, 105 - 116.

Tomlik & Wyremblewka, realizaron el estudio de 9 especies Europeas del género *Rubus* (*R. apricus*, *armeniacus*, *divaricatus*, *fabrimontanus*, *gracilis*, *hirtus*, *laciniatus*, *nessensis*, y *pedemontanus*) examinados con un microscopio electrónico de barrido y un microscopio compuesto, todos los

granos de polen son pequeños, isopolares y tricolporados, por otro lado los granos de polen tienen un colpo muy largo con acepción de *R. armeniacus*, *R. gracilis*.

Tomlik & Ham, presentan la morfología del polen de especies *Malesian Rubus*. Las muestras de polen representados a 2 subgéneros; 2 especies de subgénero Chamaebatus (*R. calycinus*, *R. pectinellus*) y 13 especies de subgénero Idaeobatus. En la mayoría de las especies de Rubus, los granos de polen de las dos subgéneros son isopolar y trizonocolporate, de tamaño pequeñas, con ornamentación estriado.

Fam. Solanaceae

Solanum betaceum Cav (P=27,91, E=24,4µm), forma subtriangular o subcircular, ornamentación psilada, grosor de la exina 1,48-1,48 o 1,52 – 1,56 µm respectivamente. (Da Silva, V, C, M, & B, 2014)

Solanum lidii Sunding, Polen tricolporado de simetría bilateral, isopolar (38 x 20,6 µm) y esferoidal 3 aberturas compuestas, la ectoabertura es un colpo bastante largo, siendo las endoaberturas alargadas. Exina: de superficie psilada.

Solanum vespertilio Ait., cuya simetría es bilateral isopolar y forma del polen es tricolporado, prolado al natural (34,6 x 21,8 µm) y esferoidal al estar embebido. Exina con superficie psilada. (Perez, 1976)

3.4.4. Viabilidad del polen.

Gehrke & Malc, indican que en un experimento con mango, se determinó la viabilidad de los granos de polen y, según Radford, Dickison, Massey, &

Bell, quienes consideran viables los granos de polen que adquieren un color rojo al ser teñidos con acetocarmín 1%; y no viables los que permanecen de color café oscuro. Se determinó la viabilidad de los granos de polen obtenidos antes de antesis, abriendo físicamente los sacos y extrayendo los granos de polen, y después de antesis recolectando el polen 2 minutos después de dehiscencia natural.

3.4.5. Germinación del polen in vitro.

Gehrke & Malc, indican que realizó varias pruebas con diferentes medios a base de agar, agar solo, agar con sacarosa a diferentes concentraciones y agar con sacarosa más diferentes compuestos, con la finalidad de determinar el medio más adecuado para que germinara el polen. Los mejores medios de germinación para el mango fueron los de agar solo, agar más sacarosa 0,01, y agar más sacarosa 0,1 g más solución nutritiva 0,1 g la germinación se presentó a las 24 h.

3.4.6. Genotécnia polinización.

Se han realizado varias observaciones de las flores de mango para determinar el momento en que abre sus órganos para ponerse en estado viable al grano de polen, comprobando que el estigma se pone receptivo a las madrugadas, y el polen se libera desde las 8 am hasta el mediodía. (Gehrke & Malc, 2008)

El tiempo mínimo que requieren el polen para germinar es de 1,5 horas, afirman se fecunda por polinización cruzada, efectuada por insectos, aunque en la naturaleza más del 50% de las flores no reciben polen.

3.5. Pesticidas

Cualquier sustancia destinada a atraer, repeler prevenir, destruir o combatir plagas, indeseadas de plantas o animales, durante la producción, almacenamiento, transporte, distribución y elaboración de alimentos, productos agrícolas o alimentos para animales. (Farrera, 2004)

3.5.1 Fungicidas convencionales.

Los fungicidas son sustancias tóxicas que se emplean para impedir el crecimiento o eliminar de plagas perjudiciales para las plantas, los animales o el hombre.

3.5.1.1. Clorotalonil (Bravo 500).

El Clorotalonil es un fungicida de contacto, de acción preventiva, de aplicación foliar; ideal para el control de Alternaría, Antracnosis y Botrytis en dosis de 2,5 a 3 cc-L⁻¹. Tiene una limitada capacidad de translocación local lo que le confiere acción de erradicación. Su mecanismo de acción se da por la Inhibición de la respiración de las células del hongo, es decir, las enzimas que afectan al ciclo de Krebs se desactivan y no producen ATP y la célula muere. (Syngenta, 2011)

3.5.1.2. Hidróxido de cobre (Kocide 2000).

Es un producto preventivo que, se aplica antes de que aparezcan los síntomas de la enfermedad causadas por *Phytophthora infestans*, *Alternaria solani*, o cuando las condiciones climáticas sean favorables al desarrollo y diseminación de los patógenos ya que el ión de cobre desnaturaliza las proteínas presentes en el hongo, en dosis de 2 g-L⁻¹ de agua. (PROFICOL, 2010)

3.5.1.3. Carbendazim (Derosal plus).

Carbendazim 500 g/L, SC. Fungicida sistémico cuyo nombre comercial es Derosal plus, ideal para el control de Moho gris *Botrytis cinérea* en la dosis de 1, 0 cc/L. Impide la división celular y la formación del uso acromático durante la profase, inhibe la formación de la tubulina en el hongo que esté en crecimiento (mitosis). En el hongo interfiere en la síntesis de ergosterol. (BAYER , 2013)

3.5.1.4. Pyraclostrobin+Epoxiconazole (Opera LS).

Pyraclostrobin+Epoxiconazole, del grupo químico, Estrobilurina y Triazoles, es un fungicida sistémico recomendado para el control de Moho gris causado por *Botrytis cinerea* a razón de 0,5 L.ha⁻¹. Inhibidor del transporte de electrones y de la síntesis de ergosterol. Epoxiconazole como inhibidor de la biosíntesis de ergosterol, en la membrana celular de los hongos, y a través del Pyraclostrobin como inhibidor del transporte de electrones en las mitocondrias de las células de los hongos, inhibiendo la formación de ATP. (BASF, 2010)

3.5.1.5. Dimetomorf + Mancozeb (Acrobat M).

Dimetomorf + Mancozeb, que pertenece al grupo químico de las Morfolina + ditiocarbamato WP, fungicida de acción preventiva y antiesporulante para el control de *Phytophthora infestans* con una dosis de 2 – 2,5 Kg.ha⁻¹. El fungicida interrumpe la formación de la pared celular de los hongos provocando su lisis y muerte de las células disminuyendo la diseminación de la infección. (BASF.)

3.5.1.6. Bitertanol (Baycor 500 SC).

Bitertanol 50%,. Fungicida de acción preventiva y de amplio espectro, debido a las características lipófilica y baja solubilidad en agua, se mueve lentamente en la corriente de la savia de la planta, propiedad que le permite permanecer por mayor tiempo en el sitio inicial, ideal para el control de Oidium, moteado y cribado, cercospora y roya, como curativo en ciertos tratamientos en dosis de 0,1 -0,15%. Actúa como inhibidor de la síntesis del ergosterol. (BAYER, 2007)

3.5.2 Pesticidas ecológicos.

Los fungicidas naturales son un grupo de sustancias o materias activas capaces de controlar las enfermedades criptogámicas provocadas por hongos patógenos. Los fungicidas tradicionalmente más utilizados son el azufre y el cobre, pero también extractos de plantas (aceites esenciales, fermentados y decocciones, lecitinas, etc.) o incluso microorganismos (hongos y bacterias). (Morales, 2015)

3.5.2.1. Metalsulfoxilate 200 i.a.g/L (Kriphón. PM.).

Metalsulfoxilate 200 i.a.g/L. fungicida bactericida de amplio espectro de acción, actúa de modo sistémico y de contacto sobre *Peronospora sparsa*. *Phytophthora infestans* con una dosis de 0,8 – 1,0 mL.L⁻¹, Funciona alterando las esporas y esporangios que nacen de las ramificaciones terminales de los esporangioforos. Se producen daños también en las oosporas que se encuentran en las hojas, sépalos, botones y tallos. (Coello, 2008)

3.5.2.2. Hidroximetal Alquil Dimetil N (Excelent, LS).

Hidroximetil Alquil Dimetil N, es un Fungicida y bactericida de contacto, y de acción sistémica, de movimiento tanto descendente como ascendente. Acción fungicida preventivo contra *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum* sp con una dosis de 1 – 1,5 mL.L⁻¹ El producto localiza a los Fitopatógenos y activa un mecanismo de competencia por oxígeno, donde se precipitan las proteínas propias del hongo y las elimina por bloqueo enzimático. (Mena Oleas, 2009)

3.5.2.3. Metal tio sulfato – N. (Mil Agro).

Metal tio sulfato – N .370 gr/l Es un fungicida bactericida de acción preventiva y curativa, 1,5 -2,0 mL.L⁻¹. Inactiva las enzimas esenciales del funcionamiento del hongo. Como bactericida actúa en la precipitación de proteínas propias las bacterias también en el antagonismo de los metabolitos esenciales de las células y bacterias aeróbicas por competencia de oxígeno. En las fases primarias de infección, interviene en la respiración del hongo. (Mena Oleas, 2009)

3.5.2.4. Extracto de Reysa (Milsana).

Extracto de Reysa (*Reynoutria sachalinensis*), de acción translaminar eficaz para el control de Cenicilla (*Oidium* sp.), Botrytis (*Botrytis* spp.) con una dosis de 2,0 mL.L⁻¹. En las plantas los contenidos polares requieren de 2 a 4 días para quintuplicar la actividad metabólica de azúcares, proteínas, enzimas, (Quitinasa, B= glucosidasa, Fenil alamina amonio liasa, per oxidasa, fenil oxidasa), y otros compuestos fungitóxicos naturales dentro del hospedero. (BASF, 2010)

3.5.2.5. Boscalid (Cantus WG.).

Boscalid es un Extracto Carboxamida, Fungicida translaminar, recomendado para controlar Cenicilla (*Oidium* sp.) y Botritis (*Botrytis* spp.) con una dosis de 1 g.L⁻¹, inhibe la enzima ubiquinona succinato reductasa ubicado en el complejo II mitocondrial, pertenece a una clase de flavoproteína que son parte del ciclo del citrato de Krebs interviene en el transporte de electrones en la cadena de respiración mitocondrial para abastecer de energía a la célula, en la formación de moléculas de ATP. El hongo se inmoviliza, y la célula se desintegra. (BASF, 2009)

3.5.2.6. Ácido-sulfinico-hidroximetano-Amonio-dimetil -alquil- bencil (*Fungbacter* (SL)).

Ácido-sulfinico-hidroximetano-Amonio-dimetil -alquil- bencil, fungicida bactericida preventivo contra *Botrytis*, Mildeo, *Alternaria*, *Fusarium* con una dosis de 1 – 1,5 mL.L⁻¹, inhibe la producción de energía, interfiriendo la respiración y por la ruptura de la membrana celular. (BIO-CROP, 2009)

3.5.3 Insecticidas biológicos.

El insecticida biológico o natural está elaborado respetando el medioambiente y nuestra salud. Están compuestos por plantas, aceites vegetales y un activo no químico que determinará sus efectos. Este activo se extrae, muy a menudo, de plantas con propiedades insecticidas. (Bonet Elena, 2009)

3.5.3.1. *Metarhizium anisopliae* (*Metazeb* PM).

Entomopatógeno Bio-regulador de insectos plagas de los órdenes coleopteros, y lepidopteros en dosis de 300 g.ha⁻¹. Su mecanismo de acción es a través de la fijación de las conidias sobre el exoesqueleto, adhiriéndose sobre este y provoca la germinación desarrollando un haustorio, que libera algunas enzimas (quitinasa, cutinasa) produciendo histólisis de los tejidos ablandándoles y permitiendo la infección del hongo. (Guerrero, Carrillo, Roberto, Aguilera, & Alfonso, 1999) (ECUABIOLOGICA, 2011.)

3.5.3.2. *Beauveria bassiana* (Beauveb PM).

Beauveria bassiana Insecticida biológico, bio-regulador y entomopatógeno controla: lepidópteros, coleópteros, hemípteros e himenópteros en dosis de 300 g.ha⁻¹. Las conidias sobre el exoesqueleto, adhiriéndose sobre este y provoca la germinación desarrollando un haustorio, que libera algunas enzimas (quitinasa, cutinasa) produciendo histólisis de los tejidos ablandándoles y permitiendo la infección del hongo (fase infecciosa). (ECUABIOLOGICA, 2011.) (Lopez Lastra & Scorsettl, 2006)

3.5.3.3. *Lecanicillium lecanii* (Lecaniceb PM).

Lecanicillium lecanii , es un insecticida biológico, bio-regulador y entomopatógeno, controla coleópteros, lepidópteros y tisanoptera. En dosis de 300 g.ha⁻¹. Primera fase, los conidios del hongo entran en contacto con el tejido vivo del huésped y germinan, introduciéndose al interior del insecto. La segunda fase ocurre dentro del hemocele el hongo coloniza al insecto liberando metabolitos que causan la muerte a los 2 a 7 días. (ECUABIOLOGICA, 2011.) (Gema & L, 2012)

3.5.3.4. *Paecilomyces fumosoroseus* (Myceb).

Paecilomyces fumosoroseus es un Insecticida biológico, bio-regulador, que controla: coleópteros, lepidópteros en dosis de 300 g.ha⁻¹. En dos fases, una patogénica que ocurre cuando los conidios del hongo entran en contacto con el tejido vivo del huésped y germinan. Penetrando al interior del insecto. La segunda fase o saprofítica ocurre dentro del hemocele donde el hongo coloniza en el interior del insecto liberando metabolitos secundarios que le causan la muerte lo cual ocurre entre los 2 a 7 días dependiendo de la especie y estado del insecto. Finalmente el hongo completa su desarrollo aprovechando los nutrientes del insecto y esporula. (Castro, 2010)

3.5.3.5. *Azadirachtin* (Aceite de Nim 1%).

Azadirachtin es un insecticida que actúa por ingestión y contacto, en el estadio juvenil, no posee “efecto de choque” por lo que necesita algunos días (6-8) para manifestar su propia actividad recomendado para el control de Pulgones, Mosca blanca, Ácaros, Minador, Trips, Polilla, Piojo de San José, Chinchas, en dosis de 1 a 2 mL.L.⁻¹ Regula el crecimiento de los insectos, Actúa como antagonista de la ecdisoma hormona de la muda; Actividad fago repelente: (The Plant, 2011) (Parrotta & Chaturvedi, 1994).

3.5.3.6. *Bacillus thuringiensis*.

Bacillus thuringiensis, insecticida que actúa sobre larvas de lepidópteros, coleópteros y dípteros en dosis de 5 a 10 mL.L.⁻¹ las toxinas tipo proteico y nucleótido generadas por formas vegetativas con efecto insecticida. Los cristales son proteínas activadas e insolubles en condiciones neutras, solubilizándose en pH alto (9.5). Una vez solubilizado en el tubo digestivo del insecto la protoxina se rompe por una proteasa para producir una toxina activa, que se unen a las células epiteliales del tubo digestivo crean poros en la membrana celular y propicia un desequilibrio de iones resultando en la

pérdida de iones K^+ , alterando la presión osmótica. (Hoffmann & Frodsham, 1993) (Información técnica (*Bacillus thuringiensis*), 2009)

CAPÍTULO IV

MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Ubicación del ensayo

Los trabajos de laboratorio se realizaron en la Carrera de Ingeniería Agropecuaria IASA I localizado en la Hcda. El Prado, en los laboratorios de Química.

Materiales

Para la ejecución de la presente investigación se utilizaron cristalería y equipos de laboratorio como Estéreo microscopio, Microscopios compuesto con cámara fotográfica para microfotografía, cámara fotográfica, Microscopio electrónico de barrido, (Carrera de Biotecnología) reactivos, incubadora, pesticidas

4.2 Metodología específica relacionada con la investigación

El efecto de los pesticidas, convencionales, ecológicos y biológicos sobre el grano de polen, se llevó a cabo, en los cultivos de mora de Castilla y tomate de árbol, en dos fases. En la primera se estudió las características morfológicas del grano de polen, polaridad, estructura y tamaño, así como el mejor medio para provocar la germinación de grano de polen. En la segunda fase se estableció la influencia de la aplicación de plaguicidas sobre su germinación.

4.3 Primera fase: Caracterización morfológica del grano de polen

4.3.1 Recolección de flores de mora de Castilla y tomate de árbol.

Se realizó en el Cantón Patate, parroquia El Triunfo, Provincia del Tungurahua; utilizando la metodología donde se indica que la recolección de flores se debe realizar en horas de la mañana, ya que se encuentran en antesis; eligiéndose al azar plantas con flores abiertas en la etapa de corona, estado en el que el polen están viables para efectuar las diferentes pruebas con relación a las variables a analizar bajo condiciones de laboratorio como morfología, color y pruebas de germinación. Comprobaron que el polen se libera desde las 8 am hasta el mediodía; que el tiempo mínimo que requiere el polen para germinar es de 1,5 horas. (Gehrke & Malc, 2008).

Posteriormente las flores recolectadas fueron transportadas al laboratorio, en vasos plásticos, a una temperatura de 8 °C (laboratorio de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria) en el que se mantuvieron en refrigeración a 5 °C hasta su procesamiento de acuerdo a lo establecido. (Gehrke, Castillo, Ruiz, & Moreno, 2011)

4.3.2 Extracción de polen.

La extracción del grano de polen se realizó en una cámara de flujo laminar, ejerciendo una leve presión en la antera, en la etapa de dehiscencia; de cada flor se extrajo 0.1 g polen. El grano de polen se recolectó en cajas Petri de 5 cm de diámetro con diferentes medios de cultivo, para determinar la mejor solución nutritiva de geminación de polen.

4.3.3 Factores en estudio.

Determinar las características morfológicas del grano de polen de mora de Castilla y de tomate de árbol. Identificación del medio de cultivo óptimo para la germinación de granos de polen de mora de Castilla (*Rubus glaucus* Benth), y tomate de árbol (*Solanum betaceum*). Los tres grupos de productos cada uno con seis tratamientos, cada tratamiento con 5 repeticiones, para ser observados a las 2,4 y 6 horas de ser incubados.

4.3.4 Soluciones nutritivas para la germinación de polen.

Para esta investigación se probaron tres soluciones nutritivas con el fin de determinar el mejor medio de germinación. Según Soria & Oleas, los medios a probarse serían: 10% de sacarosa y $100 \text{ mg.L}^{-1} \text{ H}_3\text{BO}_3$, té de flores de las especies investigadas y agua bidestilada.

4.3.5 Siembra del grano de polen en el medio de cultivo.

El polen obtenido de la recolección fue depositado en cajas Petri con los medios de cultivo ya descritos. Posteriormente se incubaron en una estufa a $28 \text{ }^\circ\text{C}$, para ser observados a las 2, 4, y 6 horas mediante microscopio óptico (Jumping Modelo con cámara) utilizando los oculares de 10X y 40X para determinar la morfología y emisión del tubo polínico de los granos de polen.

4.3.6 Prueba de viabilidad del polen.

Se procedió a la tinción del polen con acetocarmín al 1%, para determinar la viabilidad. Colocando una muestra de polen sobre una placa limpia, se pone una gota de acetocarmín al 1% dejándolo actuar por tres minutos, el exceso del colorante se lava con agua y se observa al microscopio el color del grano para determinar su viabilidad, la forma y su estructura externa e interna del grano de polen.

4.3.7 Análisis estadístico.

En las variables de tipo cuantitativo se procedió a obtener estadísticas descriptivas, media, desviación estándar y coeficiente de variación. Por otro lado, dado que el estudio se realizó en dos fases. Para la primera fase se realizó un análisis de varianza (ADEVA) y contrastes ortogonales para la comparación entre los tratamientos valorados (Agua bidestilada, Sacarosa 10% y ácido bórico 100 mg.L⁻¹, y té de flores) sobre la GGP. La significación estadística para la prueba F se estableció en un 5%.

4.3.8 Características de la unidad experimental.

La unidad experimental la constituyeron los tubos de ensayo y cajas Petri conteniendo 0.1 gramos de granos de polen maduro de mora de Castilla, y de tomate de árbol los mismos que se suspendieron en tres medios diferentes.

4.3.9 Diseño experimental.

De acuerdo a la fase se utilizaron los siguientes diseños:

4.3.9.1 *Análisis de medios de cultivo.*

Para establecer diferencias entre los medios utilizados se empleó un diseño completamente al azar con 5 repeticiones

Cuadro 3.
Diseño completamente al azar

Fuente de variación	Grados de libertad
Total	14
Repeticiones	2
Tratamientos	2
Error	10
CV	

Prueba de significación de Tukey al 5 % para los tratamientos los mismos que se detallan a continuación:

M1 =Solución nutritiva: Sacarosa 10% más 100 ppm ácido bórico

M2 =Polen + agua bidestilada

M3 =Polen + te de flores de las especies

4.3.9.2 *Variables en estudio.*

Se utilizó una modificación del protocolo propuesto por Soria y Ricaurte. Cuyas variables a tomarse en cuenta para el análisis y descripción de la morfología del grano de polen fueron: Tamaño del grano de polen; Características morfológicas del polen; Viabilidad del polen: Germinación del grano de polen in vitro; Forma; Color; Dimensión del tubo polínico.

4.3.9.3 *Tamaño del grano de polen.*

Se preparó una suspensión de polen en agua bidestilada 0.1g/ml, en tubos de ensayo de 5 ml. de capacidad. Se incubó durante una hora a 28

°C se tomaron alícuotas de la suspensión en placas portaobjetos para su observación al microscopio. Se tomaron datos de morfología de 100 granos de polen no germinados se observaron el tamaño mediante el uso de un ocular micrométrico (Fisher), previamente calibrado para los diferentes lentes. Se determinó el largo y ancho. Los datos fueron tomados en milimicras (μm). Los registros fotográficos se realizaron con el uso de un equipo micro fotográfico.

4.3.9.4 *Caracterización morfológica del polen.*

El polen extraído de los estambres se colocó en portaobjetos para su observación cualitativa y cuantitativa en un microscopio de contraste de fases objetivos 10 \times y 40 \times . Se realizó el conteo de los granos de polen extraídos de cada antera, para obtener valores cuantitativos. Posteriormente, los granos de polen extraídos de cada antera antes y después de anthesis fueron depositados en portaobjetos con una gota de colorante acetocarmín 1% y se examinaron bajo el lente óptico graduado de un microscopio. Se midieron 100 granos de polen, registrando su tamaño, su forma y sus características morfológicas utilizando una cámara digital. (Gehrke, Castillo, Ruiz, & Moreno, 2011)

4.3.9.5 *Viabilidad del polen.*

La viabilidad de los granos de polen fue determinada por Radford, quien considera viables los granos que adquieren un color rojo al ser teñidos con acetocarmín 1%; y no viables los que permanecen de color café oscuro observados en un microscopio con un ocular de 40X. (Gehrke, Castillo, Ruiz, & Moreno, 2011)

4.3.9.6 *Germinación del polen in vitro.*

Se corrieron pruebas preliminares con los diferentes medios como sacarosa 10% + 100 ppm de ácido bórico; polen + agua bidestilada y polen + te de la especie en estudio, a fin de determinar el medio más favorable para que germinara el polen, y se realizaron observaciones a las 2, 4 y 6 horas, registrándose el crecimiento inicial del tubo polínico en μm .

4.3.9.7 *Forma.*

Se realizó la observación 100 granos de polen, sin germinar, colocados en un portaobjetos con gotas de agua bidestilada, para describir su forma mediante el uso de microscopio compuesto y se obtuvieron microfotografías con un ocular de 40X y 100X para documentar y respaldar la descripción

4.3.9.8 *Color.*

En las muestras de polen hidratado y en base al procedimiento utilizado para determinar tamaño, forma y color con 100 granos de polen maduro, sin germinar, inmediatamente de colocados en láminas portaobjetos con una gota de acetocarmín al 1%, se observó al microscopio óptico y se pudo comprobar que los granos de polen viables adquieren el color rojo y los no viables quedan se observa deformes y ovalados.



Gráfico 9. Polen de tomate de árbol teñido con acetocarmín al 1%

4.3.9.9 *Dimensiones del tubo polínico.*

Para determinar el largo y ancho del tubo polínico se utilizó el medio nutritivo de sacarosa al 10 % más 100 ppm de ácido bórico y se depositaron en una caja Petri de 5 cm de diámetro los 0.1 gr. el polen. Se incubó a 28°C; luego se evaluaron a las 2,4,y 6 horas, tomaron alícuotas de cada muestra y se colocaron en láminas portaobjetos, para su observación con la ayuda de un ocular micrométrico, previamente calibrado, se cuantificaron el número de granos de polen germinados, el largo y ancho del tubo polínico, los datos fueron tomados en milimicras (μm).

4.3.9.10 *Microscopia electrónica del grano de polen.*

En la carrera de Biotecnología de la ESPE se procedió a la preparación de muestras de polen de mora de Castilla y tomate de árbol para determinar la forma, tamaño y color, mediante la utilización de microscopio electrónico de barrido (MEB). (Guerra, 2013)

Se centrifugaron las muestras recibidas, desechándose el sobrenadante, luego se colocó glutaraldehído grado II al 3%, dejándola en reposo por una hora a temperatura ambiente. Posteriormente se centrifugó a 4000rpm por/minuto y se desechó el sobrenadante, se añadió tetraóxido de osmio al 1% por una hora. Se centrifugó en las mismas condiciones anteriores y se desechó el sobrenadante. Terminadas las fases de fijación y post fijación con los químicos nombrados respectivamente, se prosiguió la fase de deshidratación, para esto se utilizó series crecientes de etanol desde el 50% 60%- 70%- 80%- 90% hasta el 99%, cada una con una exposición a la muestra de 1 hora. De modo que, se añadió el etanol al 50%, se dejó 1 hora, se centrifugó y se retiró el sobrenadante, así se repitió hasta la concentración al 90%. En el caso del etanol al 99%, no se centrifugó después de haberse cumplido el tiempo de exposición, sino que, se filtró la

muestra con el etanol y la muestra que quedó en el papel filtro se liofilizó por 2 días. Se montaron las muestras en stubs y se cubrieron con oro.

Se observaron las muestras en el microscopio electrónico de barrido.

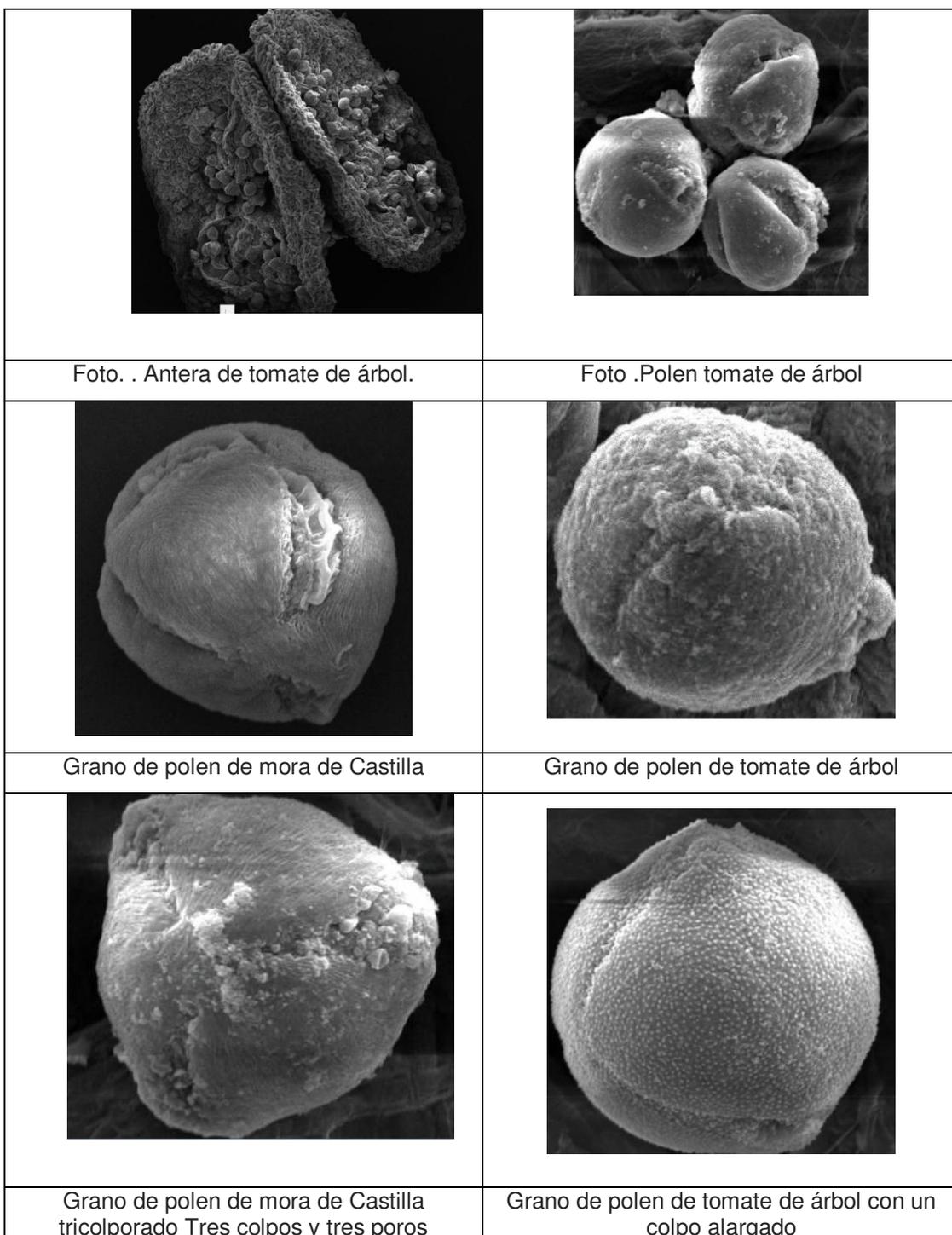


Gráfico 10. Microscopía electrónica de barrido de granos de polen de mora de Castilla y de tomate de árbol.

FUENTE: Sara Guerra Biotecnología ES PEMi

4.4 Segunda fase: Efecto de la aplicación de pesticidas sobre la GGP

Impacto de los Pesticidas de uso común (convencionales, ecológicos y biológicos) en los controles fitosanitarios en los cultivos de mora de Castilla (*Rubus glaucus* Benth), y tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav) sobre la morfología del grano de polen.

4.4.1 Factores en estudio del efecto de los pesticidas en el PGGP.

- Efecto de los grupos de pesticidas en la germinación del grano de polen.
- Efecto que causan los pesticidas en la germinación del grano de polen.
- El largo del tubo polínico.

4.4.2 Pesticidas.

Acción de 6 fungicidas convencionales, 6 fungicidas ecológicos y 6 insecticidas biológicos y sus interacciones, sobre la germinación del grano de polen, diámetro total, longitud de tubo polínico y cambios morfológicos.

P1	6 fungicidas convencionales
P2	6 fungicidas ecológicos
P3	6 insecticidas biológicos
P0	Testigo

4.4.3 Tratamientos.

Los tratamientos, se dispusieron en cajas Petri conteniendo sacarosa 10% más 100 ppm de ácido bórico más la concentración adecuada de pesticidas para las pruebas como lo indica el Cuadro 4.

Cuadro 4.

Tratamientos químicos, ecológicos e insecticidas biológicos.

Fungicidas Convencionales.

Ingrediente activo	Nombre comercial	Dosis.L ⁻¹ de agua
1.Clorotalonil	Bravo 720	2,5 gL. L ⁻¹
2.Hidrocido de cobre	Kocide 2000	2,0 gL.L ⁻¹
3. Carbendazim	Derosal plusl	1,0 mL.L ⁻¹
4.Pyraclostrobin+ Epoxiconazole	Opera	0,5 L.ha ⁻¹
5.Dimetomorf + Mancozeb:	Acrobat M	3,75 gL.L ⁻¹
6.Bitertanol	Baycor 500 SC	1,5 gL.L ⁻¹

Fungicidas Ecológicos

Ingrediente activo	Nombre comercial	Dosis.L ⁻¹ de agua
1.Metalsulfoxilate 200 i.a. g/L ⁻¹	Kriphón.	1,0 L.ha ⁻¹
2.Hidroximetal Alquil Dimetil N	Excellent.	0,8 mL.L ⁻¹
3.Metal tio sulfato–N.	Mil Agro	2,0 mL.L ⁻¹
4.Extracto de REYSA	Milsana	2,0 mL.L ⁻¹
5.Boscalid	Cantus	1,0 gL.L ⁻¹
6.Ácido-sulfinico-hidroximetano-Amonio-dimetil- alquil-bencil	Fungbacter (SL)	1,5 mL.L ⁻¹

Productos Biológicos

Ingrediente activo	Nombre comercial	Dosis.L ⁻¹ de agua
1.-Conidios de <i>Metarhizium anisopliae</i>	Metazeb	1,5 gL.L ⁻¹
2.- <i>Beauveria bassiana</i>	Beauveb	1,5 gL.L ⁻¹
3.- <i>Lecanicillium lecanii</i>	Lecaniceb	1,5 gL.L ⁻¹
4.- <i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	MYCEB	1,5 gL.L ⁻¹
5.- Azadirachtin	Neem Extract	2 mL.L ⁻¹
6.- <i>Bacillus thuringiensis</i>	Bacillus thuringiensis	5-10 mL.L ⁻¹

4.4.4 Diseño experimental.

El diseño experimental implementado fue bajo un esquema de Diseño Completamente al azar (DCA) con 3 repeticiones. Los grupos constituyeron los fungicidas, insecticidas de diferentes orígenes presentados en el Cuadro 5.

Cuadro 5.

Tratamientos, grupo, código, descripción y dosis de la investigación. (EPA. 2011).

FUNGICIDAS QUÍMICOS				
No. Trat.	Grupo 1	Código	Descripción	Dosis/L de agua
1	Testigo	TA	Sacarosa 10% + ácido bórico 100 ppm	
1	G1	G1F1	Clorotalonil (Bravo 720)	3,0 gL.L ⁻¹
2	G1	G1F2	Hidróxido de cobre (Kocide 2000)	2 gL.L ⁻¹
3	G1	G1F3	Carbendazim (Derosal Plus)	1 mL.L ⁻¹
4	G1	G1F4	Piraclostrobin + Epoxiconazole (Opera)	0,75 mL.L ⁻¹
5	G1	G1F5	Dimetomorf + Mancozeb (Acrobat MZ)	3,75 gL.L ⁻¹
6	G1	G1F6	Bitertanol (Baycor)	1,5 gL.L ⁻¹
FUNGICIDAS ECOLÓGICOS				
No. Trat.	Grupo 2	Código	Descripción	Dosis
1	G2	G2F1	Metalsulfoxilate 200i.a.g/l (Kripton)	1 L.ha ⁻¹
2	G2	G2F2	Hidroximetil Alquil Dimetil N (Exelent)	0,8 mL.L ⁻¹
3	G2	G2F3	Metal tio sulfato – N. (Milagro)	2,0 mL.L ⁻¹
4	G2	G2F4	Extracto de REYSA (Milsana)	2 mL.L ⁻¹
5	G2	G2F5	Boscalid (Cantus)	1 gL.L ⁻¹
6	G2	G2F6	Fungbacter	1,5 mL.L ⁻¹
INSECTICIDAS BIOLÓGICOS				
No. Trat.	Grupo 3	Código	Descripción	Dosis
1	G3	G3I1	<i>Metarhizium anisopliae</i> (Metazeb)	1,5 gL.L ⁻¹
2	G3	G3I2	<i>Beauveria bassiana</i> (Beauveb)	1,5 gL.L ⁻¹
3	G3	G3I3	<i>Lecanicillium lecanii</i> (Lecaniceb)	1,5 gL.L ⁻¹
4	G3	G3I4	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i> (MYCEB)	1,5 gL.L ⁻¹
5	G3	G3I5	Azadirachtin (Aceite de Neem)	2 mL.L ⁻¹
6	G3	G3I6	<i>Bacillus thuringiensis</i>	10 mL.L ⁻¹

4.4.5 Características de la unidad experimental.

La unidad experimental, en esta investigación, la constituirán los tubos de ensayo, o cajas Petri de 5 cm de diámetro, cada uno contendrá 0.1 gramos de polen y el tratamiento específico en la misma proporción.

4.4.6 Análisis estadístico.

Para la fase 2, la comprobación de las hipótesis a prueba se realizó a través de la prueba de Bartlett para la comprobación de homogeneidad de varianzas al 5% de significación estadística, como se indica en el cuadro 6.

Una vez comprobada la falta de homogeneidad, se realizó pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis con el mismo valor de significación. Finalmente, para los contrastes pareados se realizó la prueba U de Mann

Withney con ajuste de la significación estadística debido a los contrastes múltiples. Los análisis estadísticos se realizaron con el paquete Agricolae (Mendiburu) bajo el software R versión R.3.0.1.

4.4.7 Esquema del análisis de variancia.

Cuadro 6.
Diseño Análisis Grupal

Fuente de Variación	Gados de libertad
Total	56
Tratamiento	18
Error	38

Coeficiente de variación $CV = (\sqrt{CM} / \bar{X}) 100\%$

4.4.8 Análisis funcional.

Se aplicó la prueba U de Mann Withney al 5% de significación estadística.

4.4.9 Variables y metodología de evaluación.

4.4.9.1. Número de granos bien formados.

El 0,1 g de granos de polen fue colocado en cajas Petri conteniendo sacarosa 10% más 100 ppm de ácido bórico esterilizadas a 121 ° C durante 15 minutos, a los que se adicionó los pesticidas en las dosis comerciales recomendadas. Colocados los granos de polen en una proporción equivalente, en las cajas Petri, se incubó a una temperatura de 28°C, para ser evaluadas a las 2, 4 y 6 horas. Para el análisis de las mismas se tomó alícuotas de cada muestra y se depositaron en un portaobjeto, se realizó las evaluaciones con la ayuda de ocular micrométrico (Fisher) previamente calibrado, contabilizándose 100 granos de polen, cuantificando el número

de granos que no presentan daños en su pared celular, los datos obtenidos se establecieron en porcentaje.

4.4.9.2. *Número de granos de polen dañados.*

Siguiendo el procedimiento anterior, con muestras que contenían el tratamiento respectivo, se realizó las evaluaciones con ayuda de un microscopio ocular micrométrico, previamente calibrado, con el cual se examinaron los granos de polen que se encontraron con daños en su pared celular (exina), los datos se incluyeron en porcentaje.

4.4.9.3. *Número de granos de polen germinados.*

Se observaron los granos de polen, que emitieron su tubo polínico, a las 2,4 y 6 horas después de ser incubados, los datos fueron tomados en porcentaje, por tal razón se analizaron 100 granos de polen al azar, se cuantificaron 100 granos de polen del primer procedimiento y 100 granos del segundo procedimiento, los que contienen los pesticidas a la concentraciones comerciales recomendadas.

4.4.9.4. *Longitud de granos germinados.*

De aquellos granos que germinaron, se tomaron las dimensiones con un ocular micrométrico previamente calibrado, a las 2,4 y 6 horas de ser incubados, los datos se establecieron en milimicras (μm), de igual manera 100 granos de polen, del primer procedimiento, y siguiendo el mismo procedimiento a los granos de polen que entraron en contacto con la acción de los pesticidas en las concentraciones comerciales recomendadas.

4.4.9.5. *Ancho de tubo polínico.*

Para la medición del ancho del tubo polínico se utilizó una lámina portaobjetos graduada y con la ayuda de un ocular micrométrico, previamente calibrado, se cuantificaron 100 granos de polen, los datos se establecieron en milimicras.

CAPÍTULO V

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Resultados de la primera fase

5.1.1. Recolección de flores de mora de Castilla y tomate de árbol.

En cada sitio de muestreo se eligió al azar plantas de mora de Castilla y de tomate de árbol en los que se recolectaron flores abiertas en estado de corona justo en la etapa de antesis. La recolección de las inflorescencias se realizó en la mañana, para aprovechar la antesis que normalmente tiene lugar en la noche o en la madrugada. Las flores recolectadas se pusieron en vasos plásticos los que se colocaron en un frízer para su transporte al laboratorio en el que se mantuvieron en una refrigeradora a 5 °C hasta su proceso.



Gráfico 11. Flor de mora de Castilla (*Rubus glaucus*) en corona (Antesis).

5.1.2. Determinación de la forma del grano de polen de mora de Castilla y tomate de árbol.

Tolmik-Wireblewska, ha realizado una evaluación de 6 especies del género *Rubus*, presentando: ser pequeños, isopolares y trizonocolporados, con ornamentación estriado. De las observaciones realizadas al microscopio de luz se pudo determinar que el grano de polen de mora de

Castilla presenta una forma tricolporada, con tres poros y tres colpos muy visibles, isopolar con simetría radial, ornamentación estriada, tamaño mediano y su diámetro fue de $27,51\mu\text{m}$, el largo del tubo polínico fue de $55\mu\text{m}$ y su ancho de $9,17\mu\text{m}$. (Gonzales & Candau, 1989)

Con otras especies del género *Rubus*. Tomlik ha realizado estudios con 9 especies Europeas del género *Rubus* en microscopia electrónica y microscopio compuesto resultando que todos los granos son de tamaño pequeños, isopolares y tricolporados.

El grano de polen de tomate de árbol al ser observado con la ayuda de un microscopio marca Yuenping con lente de 10X presento una forma subcircular o subtringular con un diámetro polar de $27,51\mu\text{m}$ además es tricolporado, la exina tiene una ornamentación psilada, siendo corroborados por Dubet (2014) quien midiendó en microscopia electrónica obtuvo un diámetro polar de polen de $27,91\mu\text{m}$ y una ornamentación psilada, además con un grosor de la exina de $1,48\mu\text{m}$. El largo del tubo polínico en el testigo fue de $81,99\mu\text{m}$ y su ancho de $9,77\mu\text{m}$.



Gráfico 12. Polen de mora de Castilla (*Rubus glaucus Benth*) germinado.

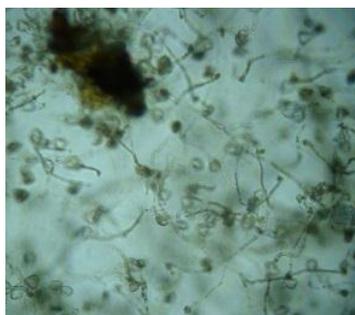


Gráfico 13. Polen de tomate de árbol (*Solanum betaceum Cav*) germinado.



Gráfico 14. Polen germinado y exina visible

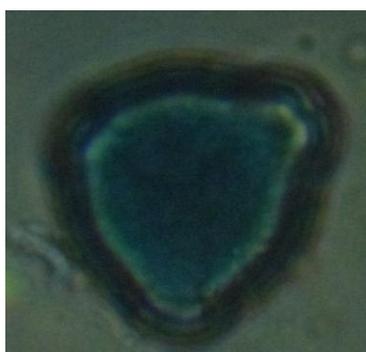


Gráfico 15. Grano de polen de mora de Castilla tricolpado.

En los dos casos el color del grano de polen al ser teñidos con acetocarmin al 1% adquiere el color rojo del colorante, con una forma tricolporada. Mientras que los granos de polen no viables quedan transparentes y tiene una forma ovalada.

5.1.3. Determinación de dimensiones del tubo polínico.

Para determinar la dimensión del tubo polínico se provocó su germinación en agua bidestilada esterilizada. Se colocaron los granos de polen en tubos de ensayo con agua bidestilada en proporción de 1:1 y se incubaron a 24 °C, la evaluación se realizó a las 2, 4 y 6 horas, de cada tubo de ensayo se tomaron alícuotas del líquido conteniendo el grano de polen y se depositaron en láminas portaobjetos para medir su diámetro, el porcentaje de germinación, el largo y ancho de tubo polínico conforme pasa el tiempo obteniéndose los siguientes resultados.

5.1.4. Determinación de la solución nutritiva para permitir la germinación del polen.

La determinación de la solución nutritiva que ayudó a la mejor germinación del grano de polen, fue resultado de la prueba previa de tres mezclas con cinco repeticiones y evaluadas en tres horas (2,4y 6 h). Los resultados fueron muy variables en la germinación, con un coeficiente de variación de 42,8 %, debido al contenido de cada una de las soluciones empleadas, en especial al contenido de sacarosa (10%), la cual fue utilizada por el empleo en otros trabajos, conforme lo cita Soria (1996), que encontraron que la mejor respuesta a la germinación del grano de polen fue una mezcla conformada por sacarosa al 10% más 100 mg. L⁻¹ de ácido bórico. Los resultados tuvieron una correlación del 78 %, el cual para fines de investigación dentro del laboratorio es aceptado.

Los resultados del Cuadro 7, indicaron que existe significación para tratamientos y modelo empleado, siendo que el tratamiento con sacarosa fue el mejor (28.68) frente a las otras dos soluciones empleadas, las cuales entre ellas no fueron significativas con un promedio de 6.3 % de germinación del grano de polen (Cuadro 8). La variación del porcentaje de germinación con relación a las soluciones empleadas se observa en el Gráfico 13. %, Esta información fue reportado por Soria (1996) y Ricaurte (1999).

Cuadro 7.
Análisis de variancia de los datos de PGGP de mora de Castilla con las soluciones nutritivas.

F.V.	SC	gl	CM	F	P-VALOR
Modelo	5135,37	3	1711,79	49,34	<0,0001
TRAT	5017,16	2	2508,58	72,31	<0,0001
tiempo	118,21	1	118,21	3,41	0,0721
Error	1422,47	41	34,69		
Total	6557,83	44			

Cuadro 8.

Prueba de Tukey 5% para el PGGP en mora de Castilla en la Determinación de las soluciones nutritivas.

TRAT	Medias	n	E.E.	Rango
Té de flores	5,76	15	1,52	b
Agua bidestilada	6,84	15	1,52	b
Sacarosa 10 % + 100 ppm de ácido bórico	28,68	15	1,52	a

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

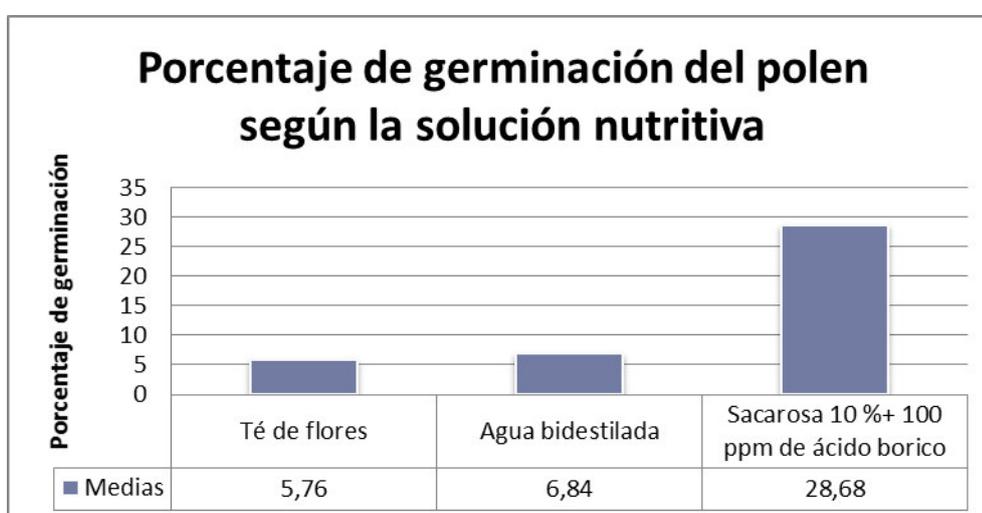


Gráfico 16. Porcentaje de germinación de los granos de polen de mora de Castilla en las soluciones nutritivas.

5.1.5. Tomate de árbol.

La determinación de la mejor solución que permitió la mayor germinación del polen de tomate de árbol se obtuvo un coeficiente de variación de 28.43% considerado bueno en investigaciones. EL poder explicativo del modelo en evaluación fue del 87% lo cual se refleja en el cuadro 9.

Cuadro 9.

Porcentaje de germinación del polen de mora y tomate de árbol.

%GERMINACIÓN	N	R ²	R ² AJ	CV
mora	45	0,78	0,77	42,81
Tomate	45	0,87	0,86	28,43

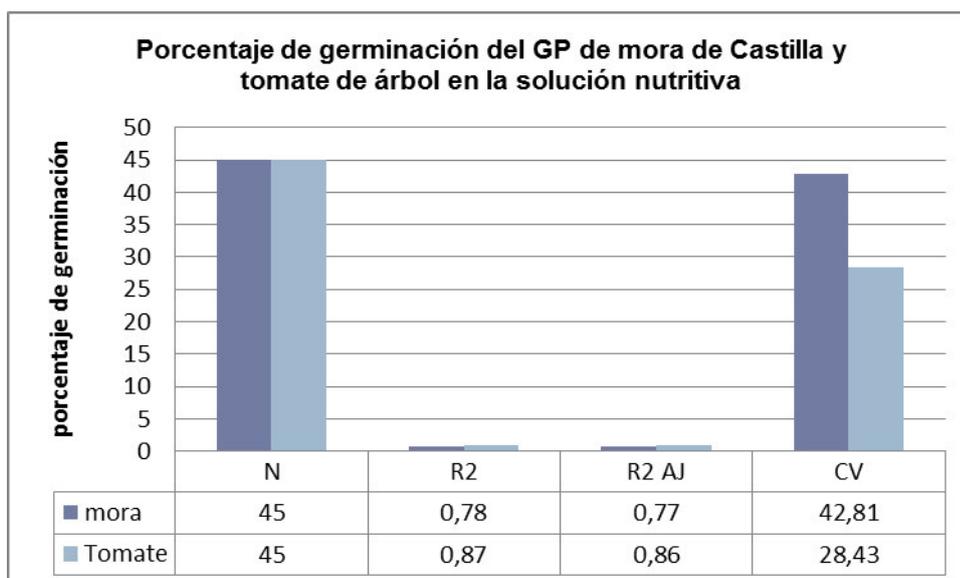


Gráfico 17. Comparación del coeficiente de variación en el porcentaje de evaluación entre mora de Castilla y tomate de árbol

Cuadro 10.

Datos obtenidos en la prueba de Tukey del PGGP de tomate de árbol en las soluciones nutritivas.

TRAT	Medias	n	E.E.	
Té de flores	2,38	15	0,64	c
Agua bidestilada	7,00	15	0,64	b
Sacarosa 10 %+ 100 mg. L⁻¹ de ácido bórico	16,58	15	0,64	a

De los resultados obtenidos de las soluciones y analizados estadísticamente, Cuadro 10, se pudo determinar que si existe diferencia significativa al 0,05 % entre los tratamientos en estudio. La prueba de Tukey Cuadro 11, encontramos tres rangos: el uno formado por sacarosa 10% más ácido bórico 100 ppm con 16,58 % de germinación y un segundo rango tenemos al agua bidestilada con un 7% de germinación y finalmente el té de flores en el rango c con un 2.38% de germinación promedio. De esta manera, se comprueba que la solución sacarosa al 10 % más 100 mg.L-1 ácido bórico es la recomendada para ser utilizada en la segunda fase.

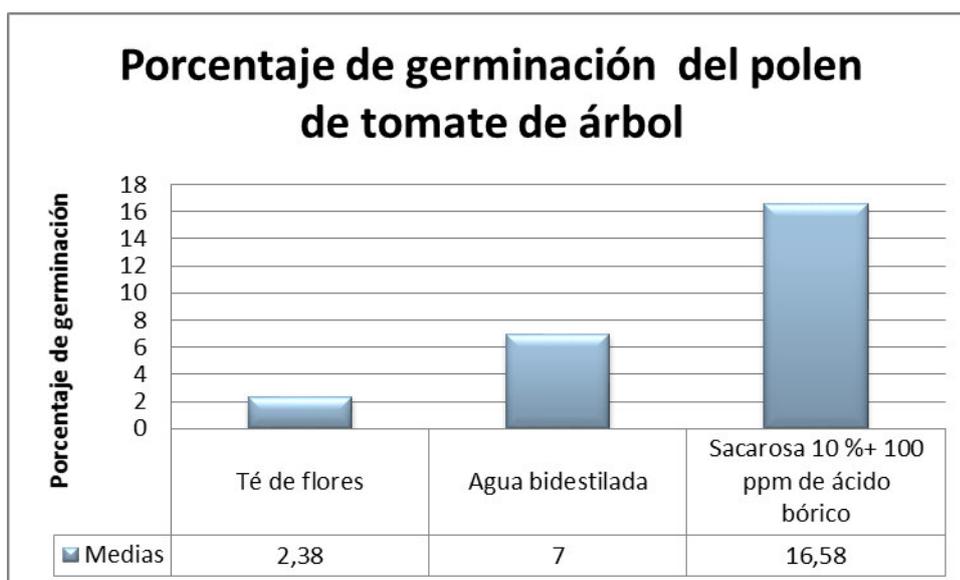


Gráfico 18. PGGP de tomate de árbol de acuerdo a la solución nutritiva.

5.2 Resultados de la segunda fase

5.2.1 Mora de Castilla.

5.2.1.1 *Porcentaje de germinación de los granos de polen.*

Los tratamientos se diferenciaron al nivel del 1% en el porcentaje de germinación de los granos de polen en cada una de las tres evaluaciones establecidas, al mismo nivel se diferenciaron las fuentes de variación en que se dividió los tratamientos, a excepción de la comparación P0 vs P1,P2,P3 que a las 2 y 4 horas no presento diferencias estadísticas, y en la comparación P1 y P2 que a las 2 horas únicamente se diferenciaron a nivel del 5% y a las 6 horas no presento significación estadística (Cuadro 11).

Cuadro 11.
Análisis de variancia del PGGP de mora de Castilla bajo el efecto de productos fúngicos.

FUENTES DE VARIACION	GL	PORCENTAJE DE GERMINACION		
		2 HORAS	4 HORAS	6 HORAS
TOTAL	56			
TRATAMIENTOS	(18)	376.95 **	275.30 **	294.03 **
PRODUCTOS	3	184.67 **	319.14 **	561.10**
P0 vs P1,P2,P3	1	1.50 ns	7.89 ns	359.31**
P3 vs P1,P2	1	513.04 **	774.41 **	1323.63 **
P1 vs P2	1	39.46*	175.12 **	0.37 ns
DP1 (CONVENCIONALES)	5	346.47**	339.46**	211.69**
DP2 (ECOLOGICOS)	5	516.82**	110.48 **	211.08**
DP3 (BIOLOGICOS)	5	382.93**	349.67**	299.06**
ERROR	38	6.88	7.70	22.18
\bar{X} (%)		9.97	7.30	7.62
CV (%)		26.32	38.04	61.82

Cuadro 12.
Efecto de productos fúngicos sobre el PGGP de mora de Castilla en evaluaciones a las 2, 4 y 6 horas

PRODUCTOS	PORCENTAJE DE GERMINACION		
	2 HORAS	4 HORAS	6 HORAS
P0 TESTIGO	10.66 b	5.72 ab	18.27 a
P1 FUNGICIDAS CONVENCIONALES	6.70 c	6.91 ab	3.63 b
P2 FUNGICIDAS ECOLOGICOS	8.80 bc	2.50 b	3.42 b
P3 INSECTICIDAS BIOLOGICOS	14.29 a	12.74 a	14.03 a

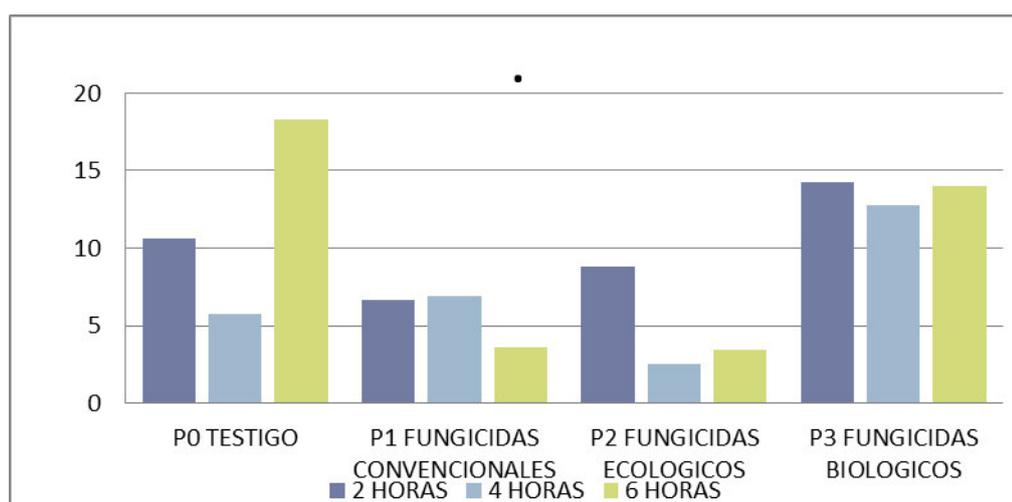


Gráfico 19. Efecto de los tratamientos en el PGGP de mora de Castilla al permanecer por 2, 4 y 6 horas en contacto con los pesticidas.

En términos generales los promedios de los productos biológicos se equipararon al testigo a excepción en la evaluación a las 2 horas donde un mejor porcentaje de germinación presentaron los productos biológicos, los menores porcentajes de germinación del grano de polen se presentó con los grupos fungicidas ecológicos y convencionales (cuadro 12 y gráfico 19).

5.2.1.2 Germinación 2 horas.

De acuerdo a la prueba de homogeneidad de varianzas de Barlett (p -valor=0.00), muestra que no hay homogeneidad de varianzas entre grupos. La prueba no paramétrica para medias de Kruskal-Wallis (53.1, p -value=0.00), indica que hay diferencias estadísticas significativas entre las medias de los tratamientos evaluados.

Cuadro 13.
Prueba de homogeneidad de varianzas de Barlett.

Homogeneidad de Varianzas	Producto	Promedio	Rango
Bartlett's K-squared = Inf	CANT	52.00	a
df = 9, p-value < 2.2e-16	MILS	50.33	ab
	BITER	49.67	ab
Value: 51.32648	BEUV	47.00	ab
degrees of freedom: 18	LECAN	46.67	ab
Pvalue chisq : 4.744821e-05	MYC	41.33	bc
	METAZ	37.33	c
t-Student: 2.024394	TES	35.67	c
Alpha : 0.05	PYRA	35.33	c
LSD : 9.154061	CARB	22.83	d
	BACILL	19.33	de
	FUNG	19.00	de
	CLOR	13.50	e
	DIME	13.50	e
	EXEL	13.50	e
	EXTRA_NIM	13.50	e
	HIDRO	13.50	e
	KRIP	13.50	e
	MIL	13.50	e

El cuadro 13 reportó 5 rangos de significación estadística para los tratamientos; encontrándose en primer lugar Cantus, Milsana, Bitertanol, *Beuveria*, y Lecaniceb seguidos en otro rango a los productos, Myceb, Metazeb, Pyraclostrobin+ Epoxiconazole, al testigo y Pyraclostrobin con potenciales de germinación de polen a las dos horas de entre el 41,33 % a 35,33.

Los otros tratamientos oscilaron entre el 13 y 23% de germinación del tubo polínico; entre estos productos se mencionan a: Bencimidazol, Bacillus, Ácido-sulfínico-hidroximetano-Amonio-dimetil- alquil-bencil, Clorotalonil, Dimetomorf + Mancozeb, Hidroximetil Alquil Dimetil N, Azadirachtin, *Hidróxido de cobre*, Metalsulfoxilate 200 i.a.g/L y Metal tio sulfato – N.

En el gráfico 20 con los tratamientos en la mora de Castilla podemos observar que los productos Cantus, Milsana, Bitertanol, *Beuveria* y Lecaniceb se encuentran en los primeros lugares, superando a Myceb, Metazeb, el testigo y Pyraclostrobin ubicados en segundo lugar quedando en ultimo lugar los productos que no permitieron la germinación del polen.

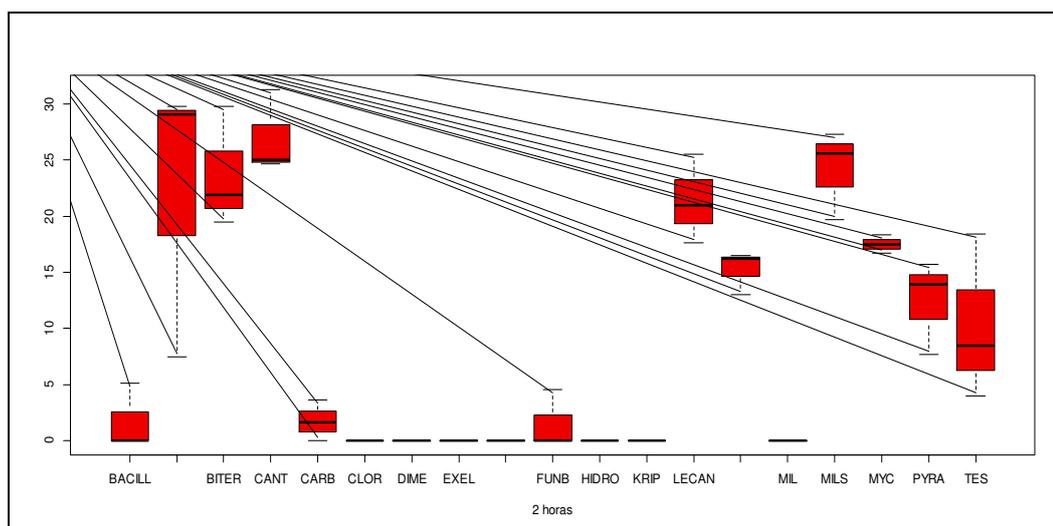


Gráfico 20. Comportamiento de los productos convencionales, biológicos y ecológicos en el PGGP de mora de Castilla a las 2 horas.

5.2.1.3 Germinación 4 horas.

De acuerdo a la prueba de homogeneidad de varianzas de Barlett (p -valor=0.00), muestra que no hay homogeneidad de varianzas entre grupos. La prueba no paramétrica para medias de Kruskal-Wallis (53.1, p -value=0.00), indica que hay diferencias estadísticas significativas entre las medias de los tratamientos.

Cuadro 14.

Comparación entre tratamientos a las 4 horas de estar en contacto con los pesticidas en la germinación del polen.

Homogeneidad de Varianzas	Producto	Promedio	Rango
Bartlett's K-squared = Inf df = 9, p-value < 2.2e-16 Value: 52.45222 degrees of freedom: 18 Pvalue chisq : 3.18773e-05 t-Student: 2.024394 Alpha : 0.05 LSD : 7.870953	LECAN	52.00	a
	BEUV	49.33	a
	FUNG	49.33	a
	DIME	48.67	a
	MYC	45.33	ab
	MILS	44.67	ab
	CARB	37.67	bc
	TES	36.67	c
	BACILL	31.67	c
	HIDRO	20.33	d
	MIL	19.33	d
	BITER	14.50	d
	CANT	14.50	d
CLOR	14.50	d	
EXEL	14.50	d	
EXTRA_NIM	14.50	d	
KRIP	14.50	d	
METAZ	14.50	d	
PYRA	14.50	d	

El cuadro 14 reporta 5 rangos de significación estadística para los tratamientos; encontrándose en primer lugar Lecaniceb, *Beauveria*, Fungbacter y Dimetomorf (además los productos Myceb y Milsana) con una germinación del 48 al 52%. En un segundo grupo podemos mencionar a Myceb, Milsana, Carbendazim, *Bacillus turingiensis* y el testigo, que van de 31% a 45%, para potenciales de germinación de polen a las cuatro horas.

Los otros tratamientos oscilaron entre el 14 y 22% de germinación; entre estos productos se mencionan a: *Hidroxido de cobre*, Metal tio sulfato – N, Bitertanol, Boscalid, Clorotalonil, Hidroximetil Alquil Dimetil N, Azadirachtin, Ácido-sulfínico-hidroximetano-Amonio-dimetil- alquil-bencil, Metalsulfoxilate 200 i.a.g/L y *Pyraclostrobin*.

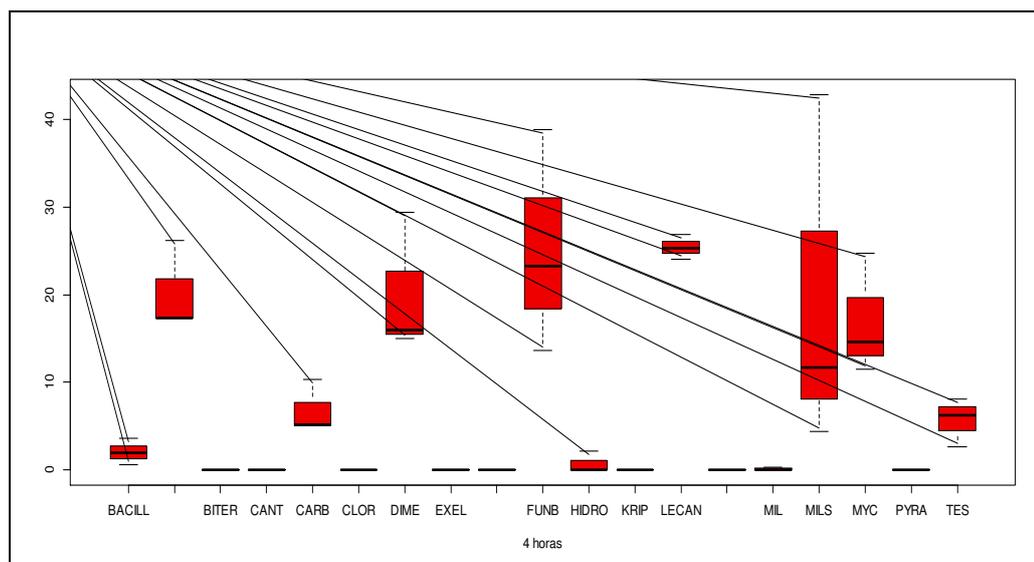


Gráfico 21. Comportamiento de los productos Convencionales, biológicos y ecológicos en el PGGP de mora de Castilla a las 4 horas.

En el gráfico 18 podemos observar que: Lecaniceb, Beuveria, Fungbacter, Dimetomorf, Myceb y Milsana se encuentran por encima de Bencimidazol y el testigo, esto nos indica claramente que esos productos permitieron una germinación superior al testigo. El resto de tratamientos demostraron no beneficiar a la germinación del grano de polen en Mora de Castilla.

5.2.1.4 Germinación 6 horas.

De acuerdo a la prueba de homogeneidad de varianzas de Barlett (p -valor=0.00), muestra que no hay homogeneidad de varianzas entre grupos. La prueba no paramétrica para medias de Kruskal-Wallis (50.8, p -

value=0.00), indica que hay diferencias estadísticas significativas entre las medias de los tratamientos evaluados. El Cuadro 15 reporta 5 rangos de significación estadística para los tratamientos; encontrándose en primer lugar Metazeb y Lecaniceb con un poder germinativo que oscila entre el 50% y 56%. Un segundo grupo de productos fue ocupado por: Beuveria, Myceb, y el Testigo con un poder germinativo entre el 43% y el 46%. Podemos mencionar un grupo adicional con aparentes buenos resultados de germinación luego de 6 horas a: Pyraclostrobin, Dimetomorf y Cantus con un poder de germinación de entre el 35% y el 43%. En el resto de productos obtuvieron germinaciones menores al 23%.

Cuadro 15.
Prueba de homogeneidad de varianzas de Barlett.

Value: 52.45222	Producto	Promedio	Rango
degrees of freedom: 18	METAZ	56.00	a
Pvalue chisq : 3.18773e-05	LECAN	50.67	ab
	BEUV	46.67	bc
Kruskal-Wallis test's	MYC	46.00	bc
Value: 50.80347	TES	43.33	bcd
degrees of freedom: 18	CANT	40.33	cd
Pvalue chisq : 5.701251e-05	DIME	39.33	cd
	PYRA	35.67	d
t-Student: 2.024394	BACILL	23.00	e
Alpha : 0.05	BITER	17.00	e
LSD : 9.108787	CARB	17.00	e
	CLOR	17.00	e
	EXEL	17.00	e
	EXTRA_NIM	17.00	e
	FUNG	17.00	e
	HIDRO	17.00	e
	KRIP	17.00	e
	MIL	17.00	e
	MILS	17.00	e

En el Gráfico 22 se puede observar a las 6 horas que Metazeb, Lecaniceb, Beuveria, Myceb y el testigo se encuentran en el primer plano; en un segundo plano tenemos Cantus, Dimetomorf más mancozeb y Pyraclostrobin; para quedar en un último plano los restantes tratamientos.

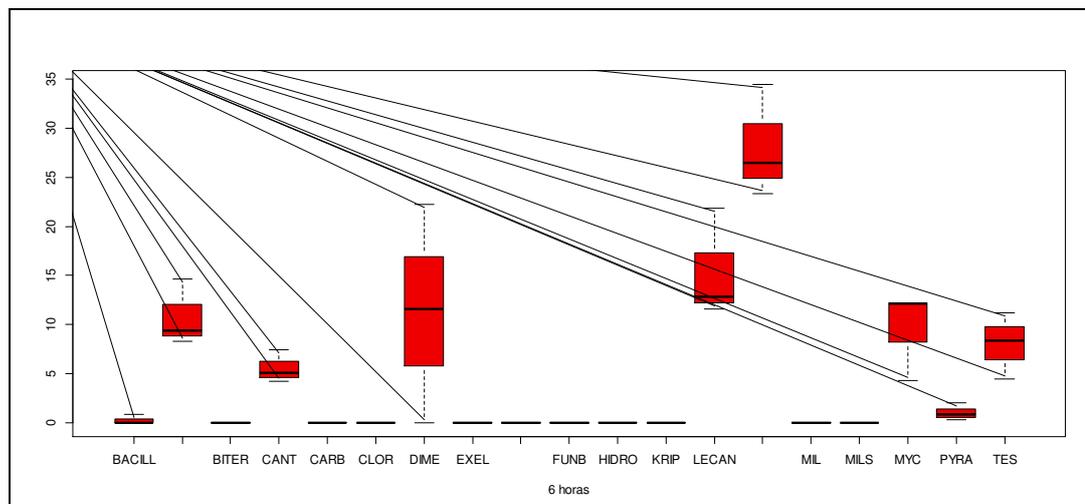


Gráfico 22. Comportamiento de los en el PGGP de mora de Castilla a las 6 horas.

5.2.1.5 *Mora: tubo polínico*

De acuerdo a la prueba de homogeneidad de varianzas de Barlett (p -valor=0.00), muestra que no hay homogeneidad de varianzas entre grupos. La prueba no paramétrica para medias de Kruskal-Wallis (20.20, p -value=0.00), indica que hay diferencias estadísticas significativas entre las medias de los tratamientos evaluados. En el cuadro 16 reporta 5 rangos de

Cuadro 16.

Rangos de significación en Mora de Castilla para los tratamientos.

Producto	Promedio	Rango
TES	22.17	a
MYC	19.50	ab
LECAN	15.00	bc
BEUV	13.83	c
PYRA	13.83	c
META	8.17	d
CANT	5.50	de
BACIL	2.50	de
CARB	1.75	e

significación estadística para los tratamientos; encontrándose en primer lugar el testigo que alcanzo 22,17 μm junto con el producto Myceb que

alcanzó 19,50 μm . En segundo rango se ubicó el fungicida Lecaniceb 15,00 μm , el tercer rango lo ocupan los tratamientos Beuveria y Pyraclostrobin con 13,83 μm . Los productos Metazeb, Cantus, Bacillus y Carbendazim tuvieron menos de 8 μm de longitud aunque efectivamente permitieron la germinación del tubo polínico.

En el Gráfico 23 se puede observar que es el testigo el que alcanza el primer lugar seguido de Myceb y Lecaniceb.

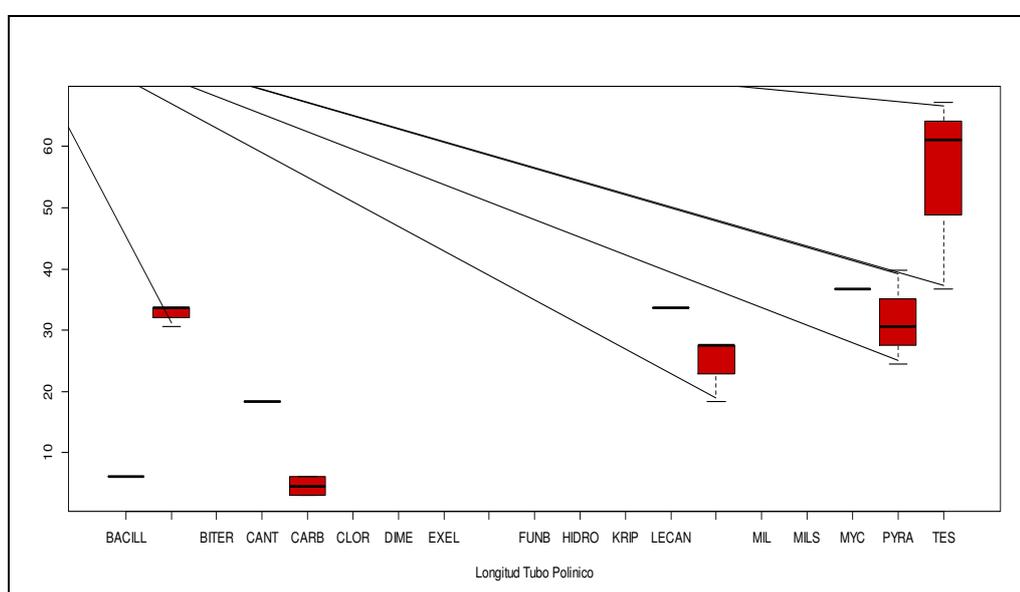


Gráfico 23. Efecto de los pesticidas sobre el PGGP de mora de Castilla (*Rubus glaucus*) en evaluaciones a los 2, 4 y 6 horas

5.2.2 Tomate de árbol.

5.2.2.1 Porcentaje de germinación del grano de polen.

Los tratamientos se diferenciaron a nivel del 1% en el porcentaje de germinación del grano de polen del tomate de árbol en las tres evaluaciones establecidas a las 2, 4 y 6 horas, al mismo nivel se diferenciaron los grupos de productos aplicados igualmente en cada una de las comparaciones ortogonales. Los productos químicos no se diferenciaron estadísticamente en cada una de las evaluaciones, mientras que entre los productos

ecológicos y biológicos se diferenciaron al nivel del 1% en cada una de las evaluaciones (cuadro 17).

Los promedios generales de los porcentajes de germinación de los granos de polen fueron de 19.20, 21.99 y 20.58% para las evaluaciones realizadas a los 2, 4 y 6 horas, respectivamente, con coeficientes de 33.35, 29.59 y 45.84%

Cuadro 17.

Análisis de variancia del PGGP de tomate de árbol bajo el efecto de productos fúngicos.

FUENTES DE VARIACION	GL	PORCENTAJE DE GERMINACION		
		2 HORAS	4 HORAS	6 HORAS
TOTAL	56			
TRATAMIENTOS	(18)	2274.70 **	2644.69 **	2803.00**
PRODUCTOS	3	5426.09**	7057.57**	4471.14 **
P0 vs P1,P2,P3	1	868.02**	1007.76**	2478.16**
P3 vs P1,P2	1	15063.42**	19141.38**	8877.90 **
P1 vs P2	1	346.83**	1023.57**	2057.38 **
DP1 (QUIMICOS)	5	90.86 ns	55.66 ns	44.21 ns
DP2 (ECOLOGICOS)	5	477.83**	1411.17**	3178.10**
DP3 (BIOLOGICOS)	5	4364.58**	3819.50**	4185.80**
ERROR	38	41.01	42.35	88.94
\bar{X} (%)		19.20	21.99	20.58
CV (%)		33.35	29.59	45.84

Los fungicidas químicos prácticamente no permiten la adecuada germinación de los granos de polen del tomate de árbol pues a lo largo de todas las evaluaciones presentó los menores promedios del porcentaje de germinación, mientras que los fungicidas biológicos presentaron promedios similares estadísticamente que el testigo, lo que nos indica que estos productos no afectaron al porcentaje de germinación del grano de polen, finalmente los fungicidas ecológicos manifestaron porcentajes intermedios, demostrando de esta manera que también afectan al normal desarrollo de la germinación de los granos de polen (cuadro 18 y gráfico 24).

Cuadro 18.

Efecto de productos fúngicos sobre el PGGP de tomate de árbol en evaluaciones a las 2, 4 y 6 horas

PRODUCTOS	PORCENTAJE DE GERMINACIÓN		
	2 HORAS	4 HORAS	6 HORAS
P0 TESTIGO	35,76 a	39,83 a	48,55 a
P1 FUNGICIDAS CONVENCIONAL	3,37 b	2,36 b	2,40 c
P2 FUNGICIDAS ECOLOGICOS	9,57 b	13,02 b	17,51 bc
P3 FUNGICIDAS BIOLÓGICOS	35,76 a	47,63 a	37,15 ab

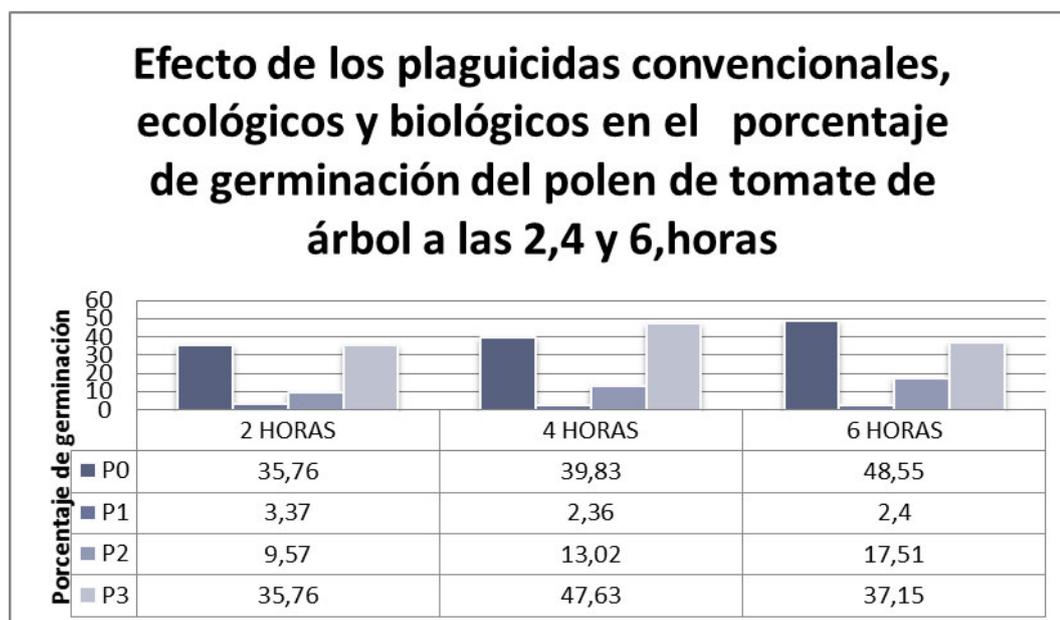


Gráfico 24. Efecto de los grupos de plaguicidas sobre el PGGP de tomate de árbol (*Solanum betaceum Cav*) en evaluaciones a los 2, 4 y 6 horas.

5.2.2.2 Germinación 2 horas.

De acuerdo a la prueba de homogeneidad de varianzas de Barlett (p -valor=0.00), muestra que no hay homogeneidad de varianzas entre grupos. La prueba no paramétrica para medias de Kruskal-Wallis (53.1, p -value=0.00), indica que hay diferencias estadísticas significativas entre las medias de los tratamientos evaluados. El cuadro 19, reporta 8 rangos de significación estadística para los tratamientos; encontrándose en primer lugar *Lecanicillium lecanii*, *Paecilomyces fumosoreoseus* y el testigo para potenciales de germinación de polen a las dos horas de entre el 50% a 54% de germinación. El *Bacillus thuringiensis* tuvo un promedio del 46% de

germinación cercano al primer grupo en rango. Los otros tratamientos oscilaron entre el 23 y 40% de germinación; entre estos productos se mencionan a: Benzimidazol, Boscalid, Clorotalonil, Metalsulfoxilate. *Metarhizium anisopliae*, Azadirachtin, Extracto de Reysa, *Beauveria bassiana*. Un último grupo, con los más bajos niveles de germinación ocuparon los productos: Metal tio sulfato–N, Bitertanol, Dimetomorf + Mancozeb, Hidroximetil Alquil Dimetil N, Ácido-sulfinico-hidroximetano-Amonio-dimetil- alquil-bencil, Hidrocido de cobre y Pyraclostrobin + Epoxiconazole, con poderes germinativos bajos que oscilaron entre el 10% y el 15%.

Cuadro 19.

Rangos de clasificación de los tratamientos sobre la GGP de tomate de árbol a las 2 horas de estar en contacto.

Homogeneidad de Varianzas	Producto	Promedio	Rango
Bartlett's K-squared = Inf, df = 18, p-value < 2.2e-16	LECAN	54.67	a
	MYC	52.67	ab
	TES	50.67	ab
Kruskall-Wallis test's Value: 53.09616 df=18	BACILL	46.00	bc
	CARB	39.33	cd
	CANT	38.67	cde
Pvalue chisq : 0.000025	CLOR	38.67	cde
	KRIP	38.00	de
	BEUV	33.50	def
t-Student: 2.024394 Alpha : 0.05	METAZ	31.33	ef
	EXTRANIM	26.33	fg
LSD : 7.418742	MILS	23.00	g
	MIL	15.17	h
	BITER	10.50	h
	DIME	10.50	h
	EXEL	10.50	h
	FUNG	10.50	h
	HIDRO	10.50	h
	PYRA	10.50	h

En el gráfico 25 podemos observar que los tratamientos que están ocupando el primer lugar son *Lecanicillium lecanii* y *Paecilomyces fumosoreoseus*, junto al testigo al permitir una muy buena germinación. En un segundo plano podemos observar a los siguientes tratamientos: *Bacillus thuringiensis*, Benzimidazol, Boscalid, Clorotalonil, Metalsulfoxilate 200 cuyo porcentaje de germinación estuvo inferior al testigo. Quedando en un

último lugar los productos que no permitieron la germinación del grano de polen en un buen porcentaje.

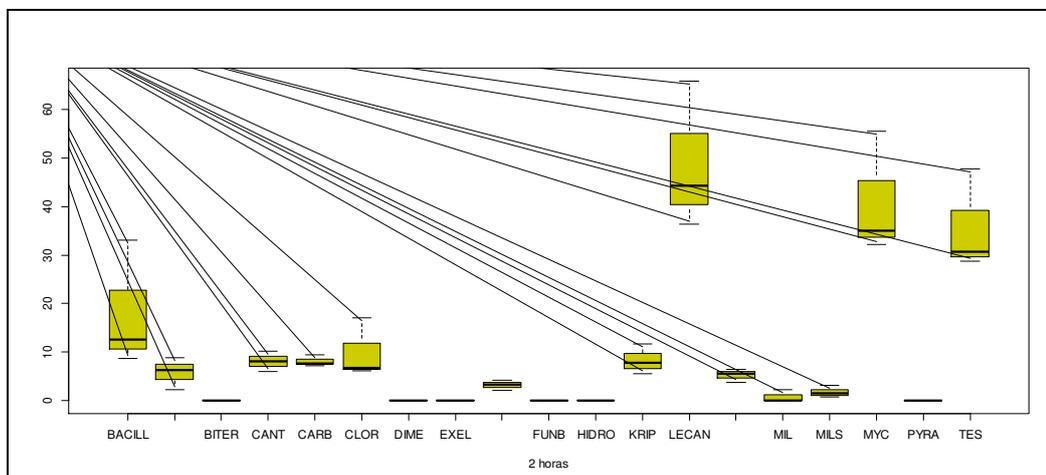


Gráfico 25. Ordenamiento de los tratamientos según su eficacia y daño en el PGGP ha las 2 horas transcurrido su contacto.

5.2.2.3 Germinación 4 horas.

De acuerdo a la prueba de homogeneidad de varianzas de Barlett (p -valor=0.00), se muestra que no hay homogeneidad de varianzas entre grupos. La prueba no paramétrica para medias de Kruskal-Wallis (53.1, p -value=0.00), indica que hay diferencias estadísticas significativas entre las medias de los tratamientos evaluados. El cuadro 20 reporta 7 rangos de significación estadística para los tratamientos; encontrándose en primer lugar *Paecilomyces fumosoreoseus*, *Lecanicillium lecanii*, y el testigo para potenciales de germinación de polen a las cuatro horas de entre el 49% a 54% de germinación. El *Bacillus thuringiensis* y *Metarhizium anisopliae* mantienen un promedio del 44% de germinación cercano al primer grupo en rango. Los otros tratamientos oscilaron entre el 31,6 y 40% de germinación; entre estos productos se mencionan a: Metasulfoxilate 200 i.a. g/L, Benzimidazol, *Beauveria bassiana*, Boscalid, Clorotalonil. Un último grupo, con los más bajos niveles de germinación ocuparon los productos: Bitertanol, Dimetomorf + Mancozeb, Azadirachtin, Ácido-sulfínico-hidroximetano-Amonio-dimetil -alquil- benci Hidroximetil Alquil Dimetil N, Hidrocido de

cobre, Metal tio sulfato – N, Extracto de Reysa y Pyraclostrobin + Epoxiconazole, con poderes germinativos bajos del 14%.

Cuadro 20.

Rangos de clasificación de los tratamientos sobre la GGP de tomate de árbol a las 4 horas de estar en contacto.

Homogeneidad de Varianzas	Producto	Promedio	Rango
Bartlett's K-squared = Inf	MYC	54.33	a
df = 18, p-value < 2.2e-16	LECAN	54	a
	TES	49	ab
Kruskal-Wallis test's	BACILL	44.33	bc
Value: 53.98849	METAZ	44	bcd
degrees of freedom: 18	KRIP	40	cde
Pvalue chisq : 1.842694e-05	CARB	38.33	de
	BEUV	35	ef
t-Student: 2.024394	CANT	34.33	ef
Alpha : 0.05	CLOR	31.67	f
LSD : 5.967692	BITER	14	g
	DIME	14	g
	EXEL	14	g
	EXTRANIM	14	g
	FUNG	14	g
	HIDRO	14	g
	MIL	14	g
	MILS	14	g
	PYRA	14	g

En el gráfico 26 se pudo observar que los productos Lecaniceb, Miceb y el testigo se ubican en un primer lugar, en segundo lugar podemos observar a Bacillus, Metazeb, Kripton y Carbendazim en un tercer lugar podemos observar a Bauveria, Cantus y Cloratalonil; situándose en el último lugar todos aquellos tratamientos que no permitieron una adecuada germinación de los granos de polen de tomate de árbol.

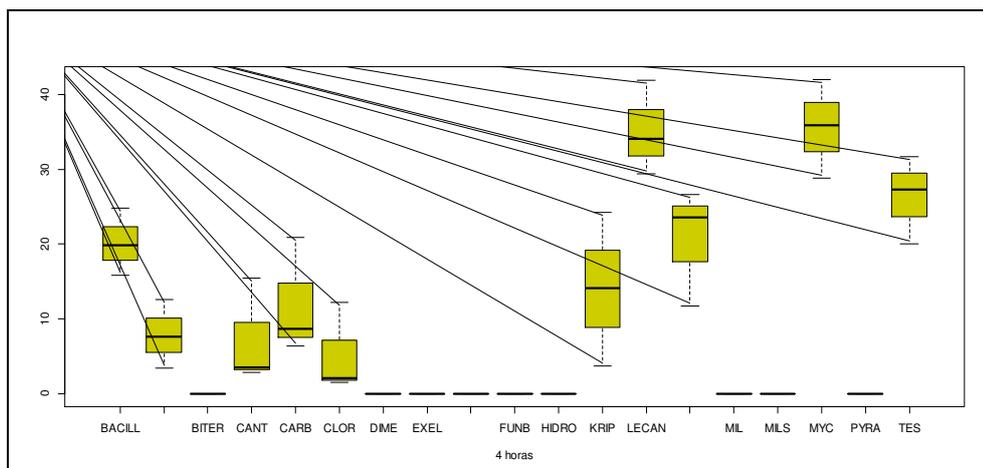


Gráfico 26. Ordenamiento de los tratamientos según su eficacia y daño en el PGGP a las 4 horas de transcurrido su contacto

5.2.2.4 Germinación 6 horas

De acuerdo a la prueba de homogeneidad de varianzas de Barlett (p -valor=0.00), muestra que no hay homogeneidad de varianzas entre grupos. La prueba no paramétrica para medias de Kruskal-Wallis (53.1, p -value=0.00), indica que hay diferencias estadísticas significativas entre las medias de los tratamientos evaluados. El cuadro 21 reporta 6 rangos de significación estadística para los tratamientos; encontrándose en primer lugar *Lecanicillium lecanii*, *Paecilomyces fumosoreoseus*, mantienen un 52 a 53% de germinación del grano de polen, en un siguiente grupo los tratamientos Cantus, *Bacillus thuringiensis*, Kripton, y el testigo para potenciales de germinación de polen a las seis horas de entre el 43% a 48% de germinación manteniéndose cerca del primer grupo. Los otros tratamientos oscilaron entre el 27 y 40% de germinación; entre estos productos se mencionan a: *Beauveria bassiana*, Clorotalonil, y Carbendazim, Un último grupo, con los más bajos niveles de germinación ocuparon los productos: Bitertanol, Dimetomorf + mancozeb, Hidroximetil Alquil Dimetil N, Azadirachtin, Metalsulfoxilate, Boscalid, Hidrocloruro de cobre, Metal tio sulfato-N, Ácido-sulfinico-hidroximetano-Amonio-dimetil- alquil-bencil,

Extracto de Reysa y Pyraclostrobin + Epoxiconazole, con poderes germinativos bajos del 16%.

En el gráfico 27 se observa que Lacaniceb, Myceb, Cantus, Bacillus, y Testigo permitieron una muy buena germinación del grano de polen existiendo un grupo de productos que no permiten una adecuada germinación de los granos de polen.

Cuadro 21.

Rangos de clasificación de los tratamientos sobre la GGP de tomate de árbol a las 6 horas de estar en contacto.

Homogeneidad de Varianzas	Producto	Promedio	Rango
Bartlett's K-squared = Inf	LECAN	53.33	a
df = 18, p-value < 2.2e-16	MYC	52.33	a
	CANT	48.33	ab
Value: 53.25064	BACILL	47.00	ab
degrees of freedom: 18	KRIP	43.33	bc
Pvalue chisq : 2.399379e-05	TES	43.33	bc
	BEUV	40.17	cd
	CLOP	35.50	d
t-Student: 2.024394	CARB	27.67	e
Alpha : 0.05	BITER	16.00	f
LSD : 6.7604	DIME	16.00	f
	EXEL	16.00	f
	EXTRANIM	16.00	f
	FUNG	16.00	f
	HIDRO	16.00	f
	METAZ	16.00	f
	MIL	16.00	f
	MILS	16.00	f
	PYRA	16.00	f

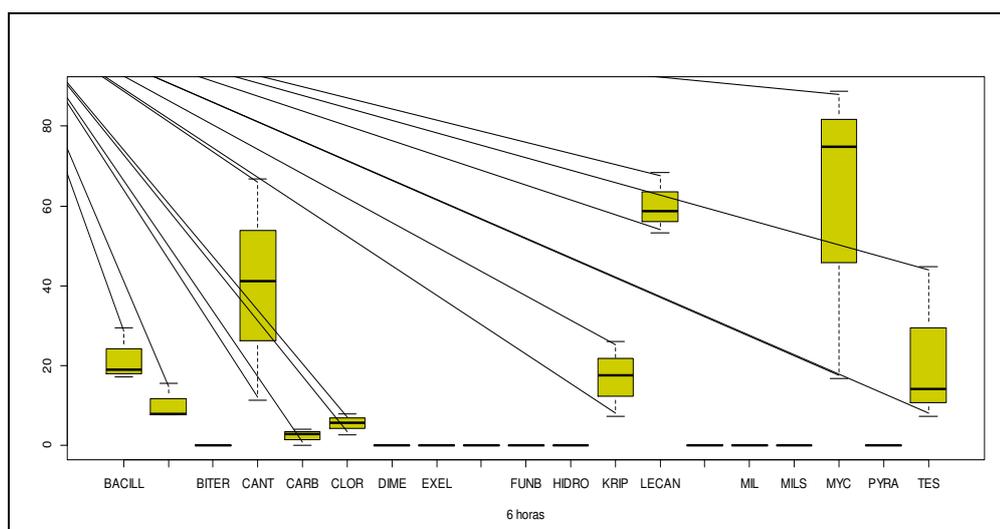


Gráfico 27. Eficacia y poco daño de los tratamientos según el PGGP a las 6 horas de transcurrido su contacto.

5.2.2.5 Tomate de árbol *Tubo polínico*.

De acuerdo a la prueba de homogeneidad de varianzas de Barlett (p -valor=0.00), muestra que no hay homogeneidad de varianzas entre grupos. La prueba no paramétrica para medias de Kruskal-Wallis (53.1, p -value=0.00), indica que hay diferencias estadísticas significativas entre las medias de los tratamientos evaluados.

Cuadro 22.

Rangos de clasificación de los tratamientos sobre la GGP de tomate de árbol a las 6 horas de estar en contacto.

Homogeneidad de Varianzas	Producto	Promedio	Rango
Bartlett's K-squared = Inf df = 9, p-value < 2.2e-16	TES	27.83	a
	MYC	24.83	b
	LECAN	22.33	b
Value: 27.38511 degrees of freedom: 9	BACILL	17.5	c
	KRIP	17.5	c
Pvalue chisq : 0.001207584	CANT	13	d
	CARB	8.25	e
t-Student: 2.093024 Alpha : 0.05 LSD : 6.7604	BEUV	5.5	e
	CLOR	5.5	e
	METAZ	5.5	e

En el cuadro 22 podemos observar que en lo referente al largo del tubo polínico el testigo (ácido bórico 100 ppm más sacarosa 10 %) alcanzó un largo de 27.83 μm ubicándose en un rango “a” acompañado de Myceb y Lecaniceb en un rango “b” para en un segundo grupo ubicarse Bacillus y Kripton 17,5 μm y Cantus 13 μm y en un tercer grupo podemos observar a Carbendacim, Beuveria, Clorotalonil y Metazeb que apenas alcanzaron de 8,25 a 5,5 μm de largo, los restantes productos no permitieron la germinación de los granos de polen.

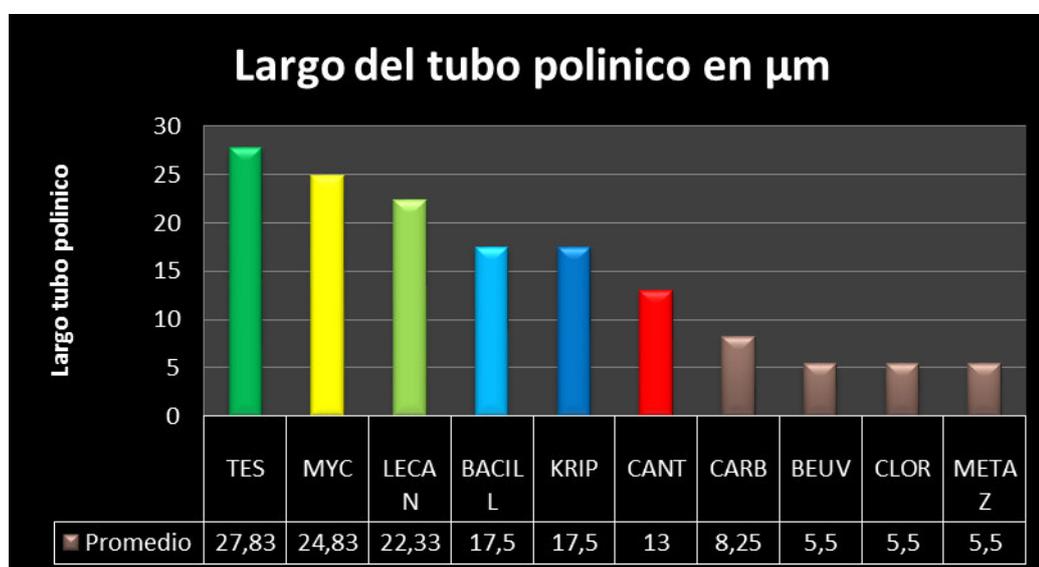


Gráfico 28. Efecto de los pesticidas en el crecimiento del tubo polínico en el tomate de árbol.

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES

6.1 Mora de Castilla

La mejor solución nutritiva para la germinación del grano de polen fue sacarosa 10% más ácido bórico 100 mg L⁻¹.

El polen de mora de Castilla presenta una forma tricolporado, con tres poros y tres colpos muy visibles, isopolar, con simetría radial, ornamentación estriada, tamaño mediano y su diámetro fue de 27,51µm, el largo del tubo polínico fue de 55 µm y su ancho de 9,17µm.

En términos generales los promedios de los productos biológicos se equipararon al testigo a excepción en la evaluación a las 2 horas donde un mejor porcentaje de germinación presentaron los productos biológicos, los menores porcentajes de germinación del grano de polen se presentó con los grupos fungicidas ecológicos y convencionales.

Los fungicidas ecológicos y convencionales afectaron la viabilidad y germinación del grano de polen; al contrario los biológicos funcionaron de igual manera que el testigo.

La prueba no paramétrica para medias de Kruskal-Wallis indica que hay diferencias estadísticas significativas entre las medias de los tratamientos evaluados a las dos horas. Reportaron 5 rangos de significación estadística encontrándose en primer lugar a Cantus, Milsana, Bitertanol, Beuveria, Lecaniceb, ubicándose por encima de Myceb, Metazeb y el testigo. El resto

de tratamientos demostraron no beneficiar a la germinación del grano de polen en Mora de Castilla.

A las cuatro horas reportando 5 rangos de significación; encontrándose en primer lugar Lecaniceb, *Beauveria*, Fungbacter y Dimetomorf (además los productos Myceb y Milsana). En un segundo grupo podemos mencionar a Carbendazim, *Bacillus turingiensis* y el testigo.. El resto de productos tuvieron una germinación baja.

A las 6 horas se puede observar que Metazeb, Lecaniceb, *Beuveria*, Myceb y el testigo se encuentran en el primer plano; para localizarse en un segundo plano Cantus, Dimetomorf más mancozeb y Pyraclostrobin, para quedar en un último plano los restantes tratamientos.

Con relación al largo del tubo polínico se observaron 5 rangos de significación estadística para los tratamientos; destacándose en primer lugar el testigo que alcanzo 22,17 μm junto con Myceb que alcanzó 19,50 μm . En segundo rango se ubicó el fungicida Lecaniceb con 15,00 μm , el tercer rango lo ocupan los tratamientos *Beuveria* y Pyraclostrobin con 13,83 μm . Los productos Metazeb, Cantus, *Bacillus* y Carbendazim I tuvieron menos de 8 μm de longitud aunque efectivamente permitieron la germinación del tubo polínico.

Por no cambiar el diámetro del grano de polen de 27.50 μm , no se manifestó diferencias en la evaluación de esta variable.

6.2 Tomate de árbol

De los resultados estadísticos obtenidos de las soluciones nutritivas se pudo determinar que sacarosa 10% más ácido bórico 100 mg,L^{-1} fue la recomendada para ser utilizada en la segunda fase.

El grano de polen de tomate de árbol presenta una forma subcircular o subtriangular con un diámetro de 27,51 μm , es tricolporado, exina con ornamentación psilada, de un tamaño de pequeño a mediano, el largo del tubo polínico fue de 27,83 μm y su ancho de 9,77 μm

Los tratamientos se diferenciaron al 1% en el porcentaje de germinación del grano de polen en las evaluaciones realizadas a las 2,4 y 6 horas de estar en contacto con los tratamientos con productos convencionales, ecológicos y biológicos.

En las comparaciones ortogonales presentaron el mismo comportamiento al 1%. Los productos convencionales no se diferenciaron estadísticamente en cada una de las evaluaciones, mientras que entre los productos ecológicos y biológicos se diferenciaron al nivel del 1% en cada una de las evaluaciones.

Los promedios generales de los porcentajes de germinación de los granos de polen fueron de 19.20, 21.99 y 20.58% para las evaluaciones realizadas a los 2, 4 y 6 horas, respectivamente, con coeficientes de 33.35, 29.59 y 45.84%.

Los fungicidas convencionales prácticamente no permiten la adecuada germinación de los granos de polen del tomate de árbol, pues a lo largo de todas las evaluaciones presentaron los menores promedios de germinación, los fungicidas biológicos obtuvieron promedios similares estadísticamente que el testigo, lo que nos indica que estos productos no afectaron al porcentaje de germinación del grano de polen, finalmente los fungicidas ecológicos manifestaron porcentajes intermedios, demostrando de esta manera que también afectan al normal desarrollo de la germinación de los granos de polen.

A las dos horas se muestran en el primer lugar los productos *Lecanicillium lecanii* y *Paecilomyces fumosoreoseus*, junto al testigo al permitir una muy buena germinación. En un segundo plano tenemos: *Bacillus thuringiensis*, Carbendazim, Boscalid, Clorotalonil, Metalsulfoxilate 200 cuyo porcentaje de germinación estuvo inferior al testigo. Quedando en un último lugar algunos de los productos que no permitieron la germinación del grano de polen en un buen porcentaje.

A las cuatro horas se reportan 7 rangos de significación estadística para los tratamientos manteniéndose en primer lugar el producto Lecaniceb, acompañado de Miceb y el testigo, en segundo lugar podemos observar a Bacillus, Metazeb, Kripton y Carbendazim, en tercer lugar tenemos a Beauveria, Cantus y Clorotalonil; situándose en el último lugar todos aquellos tratamientos que no permitieron una adecuada germinación de los granos de polen de tomate de árbol.

A las seis horas se pudo observar 6 rangos de significación estadística para los tratamientos manteniéndose en primer lugar *Lecanicillium lecanii*, *Paecilomyces fumosoreoseus*, seguidos de Cantus, *Bacillus thuringiensis*, Kripton, y el testigo existiendo otro grupo de productos como *Beauveria bassiana*, Clorotalonil, y Carbendazim, que obtuvieron un nivel bajo de germinación. Un último grupo son aquellos productos que afectan o impidieron la germinación del grano de polen.

En lo referente al largo del tubo polínico el testigo (ácido bórico 100 mg.L⁻¹ más sacarosa 10 %) alcanza un largo de 27.83 μm ubicándose en un rango "a" acompañado de Myceb y Lecaniceb en un rango "b" para en un segundo grupo ubicarse Bacillus y Kripton 17,5 μm y Cantus 13 μm y en un tercer grupo podemos observar a Carbendazim, Beauveria, Clorotalonil y Metazeb que apenas alcanzaron de 8,25 a 5,5 μm de largo, los restantes productos no permitieron la germinación de los granos de polen.

El diámetro del grano de polen no varió durante todas las evaluaciones alcanzando una medida de 27,5 μm .

Ninguno de los promedios del largo y ancho del tubo polínico de los grupos de fungicidas convencionales, ecológicos y biológicos lograron equiparar al presentado por el testigo, esto se debe a la diferente respuesta de los productos dentro de cada grupo.

CAPÍTULO VII

RECOMENDACIONES

Se recomienda ejecutar pruebas de campo con los diferentes productos que demostraron tener un incremento en el porcentaje de germinación en el grano de polen, tanto en mora de Castilla, como en tomate de árbol.

Realizar esta investigación de este tipo con otros cultivos para llegar a establecer los efectos de los diferentes plaguicidas sobre la germinación del grano de polen.

Continuar con una campaña de concienciación sobre el uso seguro y eficaz de plaguicidas ya sean convencionales, ecológicos y biológicos con la finalidad de que no se afecte nuestro entorno y la economía del agricultor.

BIBLIOGRAFÍA

- Angelfire. (3 de noviembre de 2001). *Cultivo de mora Rubus glaucus*. Recuperado el julio de 2011, de <http://www.angelfire.com/ia2/ingenieriaagricola/mora.htm>
- Arrendondo, B., & S, E. (2008). *Efecto polinizada de sales cúpricas en flores de palto cv- Hass*. Recuperado el noviembre de 2013, de http://bibliotecadigital.uchile.cl/client/es_ES/sisib/search/results;jsessionid=24999EBC83A958A51796D24E2187F6DF?qu=Fungicidas&lm=TESIS&ps=1000
- BASF. (Junio de 2009). *Herramienta clave en el manejo antirresistencia*. Obtenido de <http://www.basf.cl/agro/folleto/pdf/cantus.pdf>
- BASF. (2010). *Ficha técnica Opera*. Recuperado el agosto de 2011, de http://www.agro.basf.com.ar/images/cat_pdf/AcrobatMZ.pdf
- BASF. (s.f.). *Datos técnicos Milsana (Eurofert)*. Recuperado el agosto de 2011, de http://www.ec.all.biz/fungicida-bactericida-sistmico-pa-ton-g6045#.VUtmwo5_Oko
- BAYER . (2013). *CROP CIENCIA*. Obtenido de Derosal 500 sc: http://www.soydelcampo.com/vademecum_agricola/productos.php?id=106
- BAYER . (2014). *Productos*. Obtenido de BAYCOR 50 SC: http://www.bayercropscienceca.com/contenido.php?id=163&id_prod=574
- BAYER. (2007). *Baycor Datos técnicos*. Obtenido de <http://www.bayercropscience.com.ec/productdesc.aspx?prodid=49>
- BIO-CROP. (2009). *Fungbacter, alguicidas, fungicida, bactericida*. Obtenido de www.bio-crop.com/fungbacter.html
- Bonet Elena. (2009). *Que es un insecticida biológico*. Obtenido de <http://www.enfemenino.com/trucos/insecticidas-biologicos-s448505.html>
- Bonet, E. (2009). *Las plantas tapizan la tierra desde hace más de 400 millones de años*. Recuperado el 2012, de <http://www.redcientifica.com/doc/doc200307070903.html>
- Castro, A. (2010). *Evaluación del control biológico del hongo entomopatógeno (Paecilomyces fumosoroseus) junto con quitinolítico aislado de cascarilla de camarón sobre el ácaro (Tetranychus urticae) en la finca "florycampio"*. Cayambe.

- Coello, P. (2008). *Evaluación de tres Productos de Bajo Impacto Ambiental para el Control Integrado de Sigatoka Negra (Mycosphaerella fijiensis Morelet) en Plantaciones de Banano.*
- Da Silva, D., V, F., C, B., M, W., & B, N. (2014). *Morfología polínica de especies de solanaceae juss.* Recuperado el Noviembre de 2014, de <http://pt.slideshare.net/Label-ha/plen-solanaceae-congresso-botnica>
- De La Cadena, J., & Orellana, A. (julio de 1984). *Manual del Capacitador.* (U. d. Fruticultura, Ed.) Recuperado el agosto de 2011, de El cultivo de la mora, (Rubus glaucus): http://pdf.usaid.gov/pdf_docs/PNAAX752.pdf
- Debrot, A., Arnal, E., Solorsano, R., & Ramoa, F. (9 de septiembre de 2005). *Diagnóstico de las enfermedades del tomate de árbol en los estados Aragua y Miranda Venezuela.* Recuperado el mayo de 2011, de http://www.rlc.fao.org/es/agricultura/produ/cdrom/contenido/libro10/cap03_4.htm
- ECUABIOLOGICA. (2011.). *Agroindustria de biotecnológica y control biológico del Ecuador C.A.*
- Farrera, P. (septiembre-diciembre de 2004). *Revista Digital CENIAP HOY.* Recuperado el 20 de marzo de 2012, de ACERCA DE LOS PLAGUICIDAS Y SU USO EN LA AGRICULTURA.: http://www.ceniap.gov.ve/ceniaphoy/articulos/n6/arti/farrera_r/arti/farrera_r.htm
- Fernández, D., & De Castro, S. (2008). *Aerobiología y polinosis e Castilla y León. Junta de Castilla y León-Aerobiología y polinosis en Castilla de LEón.* (N. Comunicación, Ed.) Obtenido de <http://www.saludcastillayleon.es/ciudadanos/es/polen/polen-alergia-castilla-leon>
- Gehrke, V., & Malc, R. (Enero-Marzo de 2008). Reflexiones sobre problemas de biología reproductiva del mango Ataúlfo en el Soconusco. *Tecnología en marcha*, 21-1, 174-183.
- Gehrke, V., Castillo, V., Ruiz, B., & Moreno, M. (2011). *Viabilidad y germinación del polen en mango (Mangifera indica L.).* (e. C. Redalyc Red de Revistas Científicas de América LATina, Ed.) Recuperado el agosto de 2011, de <http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=33918012009>
- Gema, G., & L, H. (2012). *CENTRO NACIONAL DE SANIDAD AGROPECUARIA.* Recuperado el 14 de enero de 2012, de *Formulación de hongos entomopatógenos como control biológico :* <http://www.monografias.com/trabajos17/formulacion-de-hongos/formulacion-de-hongos.shtml>

- Gonzales, & Candau, P. (1989). Contribucion a la palinologia de Rosaceae . *Acta Botánica Malacitana*, 14, 105 - 116.
- Gonzales, M., & Arbo, M. (2013). *Botánica morfológica*. (U. N. Argentina, Ed.) Obtenido de Morfología de plantas vasculares: <http://www.biologia.edu.ar/botanica/tema22/tema22-9polen.htm>.
- Guerra, S. (2013). *Manejo de Microscopia electrónica de barrido*. Sangolqui: ESPE.
- Guerrero, J., Carrillo, L., Roberto, Aguilera, P., & Alfonso. (julio de 1999). *Carcaterización morfológica y germinación de cepas del hongo entomopatogeni Metarhizium anisopliae varanisopliae, asociado a las larvas de escarabaeidos y curculionidos*. Recuperado el 14 de Enero de 2012, de Agro sur: http://mingaonline.uach.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0304-88021999000200003&lng=es&nrm=iso
- Hoffmann, M., & Frodsham, A. (1993). *Natural Enemies of Vegetable Insect Pests* . (C. Extension, Ed.) Recuperado el 15 de Enero de 2012, de <http://www.nysaes.cornell.edu/ent/biocontrol/pathogens/bacteria.html>
- INCAP; FAO. (1992). *Cultivo de mora, Mora de Castilla Rubus glaucus*. Recuperado el junio de 2011, de Tabla de composición de alimentos: <http://www.angelfire.com/ia2/ingenieriaagricola/mora.htm>
- Información técnica (Bacilus thuringiensis). (2009). *Agricultura Orgánica*. Recuperado el agosto de 2011, de [gerencia@controlbiologico.com: http://www.controlbiologico.com/ep_bacillus_thuringiensis.htm](http://www.controlbiologico.com/ep_bacillus_thuringiensis.htm)
- Jaramillo, P., & Mar, T. d. (2011). *Guía Rápida de Polen de Galápagos* . (F. C. Darwin, Ed.)
- Lopez Lastra, C., & Scorsettl, A. (2006). *Hongos patógenos de insectos en Argentina (Zygomycetes; Entomophthorales)*. (b. trop, Ed.) Obtenido de Rev. biol. trop [online]. vol.54, n.2 [citado 2012-01-14], pp. 311- http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S003477442006000200008&lng=es&nrm=iso
- Maldonado, J., & INEC. (s.f.). *Encuesta y superficie y producción agropecuaria continua*. (ESPAC, Ed.) Obtenido de http://www.inec.gob.ec/espac_publicaciones/espac-2011/espac.swf
- Mena Oleas, E. (2009). *Transferir a los agricultores de tomate de árbol de la zona*. Recuperado el agosto de 2011, de <http://www3.espe.edu.ec:8700/bitstream/21000/2605/13/T-ESPE-IASA%20I-004174.pdf>
- Morales, A. (2015). *Como actúan los fungicidas naturales*. (E. B. Manos, Ed.) Recuperado el 30 de abril de 2015, de www.enbuenasmanos.com

- Palazón, I., Palazón, C., & Balduque, R. (1991). *Pesticidas aplicados en floración y polinización*. (S. d. Aragón, Ed.) Recuperado el 25 de febrero de 2012, de http://www.magrama.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd_1991_09.pdf
- Parrotta, J. A., & Chaturvedi, A. N. (1994). *Azadirachta indica* A. Juss. *Neem, margosa*. (D. o. Agriculture, Ed.) Obtenido de <http://www.fs.fed.us/global/iitf/Azadirachtaindica>.
- PAVUC. (junio de 2008). *Underutilised fruit crops with commercial potential Andean Blackberry (Rubus spp.)*. Recuperado el enero de 2012, de http://www.pavuc.soton.ac.uk/publicdocuments/Newslett_july_final.pdf
- Perez, J. (1976). *Contribución al atlas palinológico de endemismos Canario – Macaronésico. Jardín Botánico “Viera y Clavijo”, Tafira alta, Las Palmas de Gran Canarias*. ULPGC.
- PROFICOL. (2010). *Kocide 2000*. Bogotá, Colombia.
- Radford, A., Dickison, W., Massey, J., & Bell, C. (1974). *Vascular Plant Systematics*. (H. a. Row, Ed.) 891.
- Ricaurte, C. (1999). *Estudio de la morfología del grano de polen en el tomate de árbol (Cyphomandra betacea) y el efecto de la aplicación de fungicidas sobre su germinación*. Facultad de Ciencias Agropecuaria, Quito.
- Ruiz, L. (2007). *Anatomía simplificada de una flor madura*. Recuperado el agosto de 2011, de http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Mature_flower_cropped-es.svg
- SEMICOL. (enero de 2001). *Ficha técnica de mora de Castilla*. Recuperado el Agosto de 2012, de <http://www.angelfire.com/ia2/ingenieriaagricola/mora.htm>
- Solís, G., Testillano, P., Almeida, R., & Sancho, D. (2012). *Reprogramación del polen a embriogénesis inducida por estrés: identidad celular, muerte celular programada y papel de la metilación de DNA*. Madrid.
- Soria, N. (1996). *Soria, N., 1996, Influencia de pesticidas sobre la germinación de granos de polen en el tomate de árbol Cyphomandra betacea SENT*. Patate: Instituto Técnico Superior Agropecuario Benjamín Araujo.
- Soria, N. (2009). *Tecnología del cultivo de tomate de árbol en línea consultado octubre 2012*. Recuperado el octubre de 2012, de <http://tomatederbolproyecto.blogspot.com/>

- Syngenta. (26 de Agosto de 2011). *Información técnica* . Recuperado el septiembre de 2011 , de Bravo 720 SC : www.syngenta.com/country/es/sp/productos/.../bravo-720-sc.aspx
- Tamayo, J. (2001). *Principales enfermedades del tomate de árbol, la mora y el lulo en Colombia* . Obtenido de http://www.corpoica.org.co/sitioweb/libreria/verpublicacion.asp?id_publicacion=327
- The Plant. (2011). *The Plant, 2011. Hoja técnica. Extracto de Neem (Ain THC)* . Recuperado el Junio de 2011, de <http://www.cultivomarihuanas.com/Extracto-de-Neem-Ain-THC>
- Tobon, C., & Vasquez, G. (1998). *Factores asociados con la generación y adopción de tecnología en frutales exóticos* . Antioquia: CORPOICA.
- Tomlik, A., & Wyremblewka. (1995). *Pollen morphology of the genus Rubus L. I.* (P. A. Departamen of Systematics and Geography of Plant Institute of Dendrology, Ed.) Obtenido de Introductory Studies of the European Representatives of the subgenus. Rubus L.: <http://www.998-2405-2-PB%20.pdf>
- Tomlik, W., & Ham, W. V. (2004). *Polen morfología del género Rubus L.* (A. S. Poloniae, Ed.) Obtenido de Los estudios sobre la especie MAlesian de subgéneros Chamaebatus L. y L. Idaebatus: <https://pbsocietyorg.pl/journals/index.php/asbp/article/view/asbp.1995.027>.

ANEXOS

ANEXO A.- Principales plagas en el cultivo de mora (*Rubus glaucus*)

PLAGAS	SÍNTOMAS	MANEJO	CONTROL
Trips (<i>Frankliniella</i> spp)	Las oviposiciones producen verrugas. Las larvas provocan la caída de pétalos, deformación de frutos, aborto de flores y transmisión de virus	Franjas de seguridad; evitar floración de malezas; siembra recomendada 3500 plantas/ha; trampas cromáticas (colores)	Posibles controladores biológicos: <i>Orius</i> sp., <i>Amblyseius cucumeris</i> , <i>A. ibarberi</i> .
Mildeo polvoso. (<i>Oidium</i> sp)	En el haz se notan zonas cloróticas amarillas; En el envés se observar ceniza.	Poda sanitaria, cultivos limpios con buena ventilación.	Utilización de fungicidas sistémicos y preventivos azufre
Phytophthora (<i>Phytophthora</i> spp)	Produce chancros y/o ablandamientos en la base de los tallos	Eliminación de plantas contaminadas	Aplicaciones de fungicidas sistémicos.
Ácaro (<i>Tetranychus urticae</i>)	Chupan la savia de las hojas tornándose pálidas y arrugadas,	A las arañas, se localizan en el envés de las hojas.	Utilizando productos a base de azufre o acaricidas.
Pudrición de frutos. (<i>Botrytis cinerea</i>)	Se presentan como pudriciones húmedas, estas se cubren de una masa de conidios grisáceas	Recolección y quema del material enfermo. Boro fertilizante, ayuda al control de este patógeno.	El benzoato de sodio. Controla al patógeno
Antracnosis (<i>Glomerella cingulata</i> ; <i>Colletotrichum</i> spp)	Presenta pequeñas manchas de color negro en los tallos. En las hojas se presentan manchas pardas rodeadas de un halo púrpura	La poda y posterior quema de partes afectadas, mantener la planta bien aireada un buen tutorado, bajando así la humedad relativa.	Para el control químico, se realiza con la aplicación alterna de fungicidas cúpricos.
Marchitez (<i>Verticillium albo-atrum</i>)	Este hongo es vascular, ocasiona un amarillamiento de las hojas que se caen	Con buen drenaje se puede evitar la presencia del hongo.	La aplicación de Trichoderma en los sitios en los que se marchitaron las plantas.

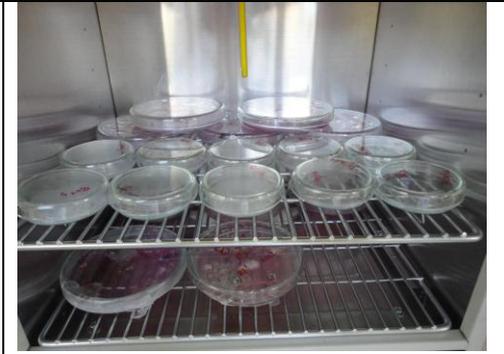
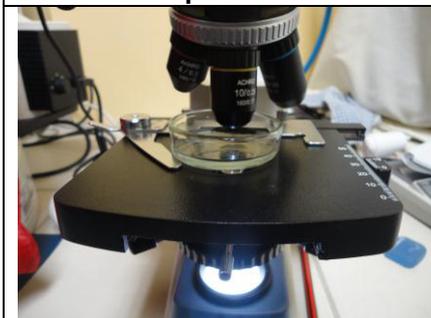
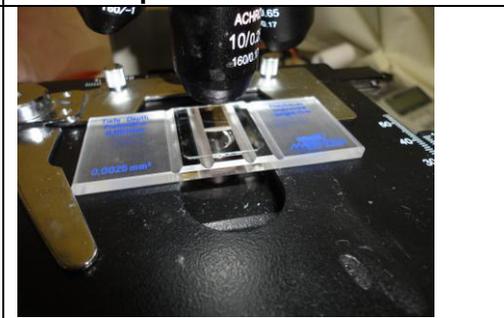
(SEMICOL, 2001).

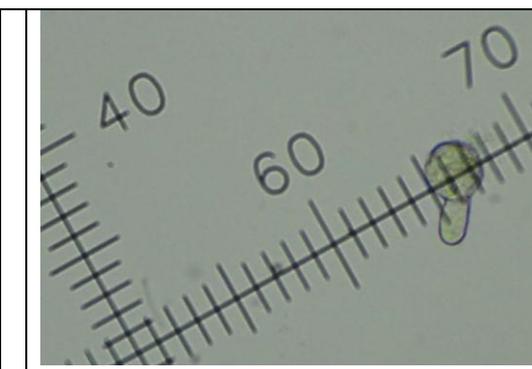
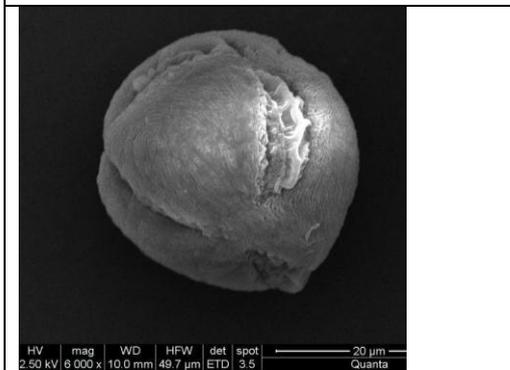
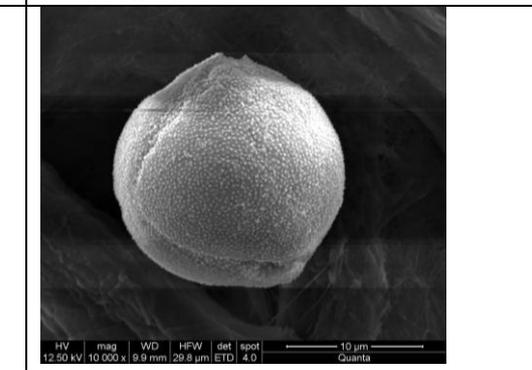
ANEXO B. Principales plagas que afectan al cultivo de tomate de árbol (*Solanum vetacium*)

	Síntomas	Manejo	Control
La antracnosis del fruto (<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>)	Los frutos producen manchas circulares negras, hundidas, de bordes definidos, que aumentan rápidamente de tamaño	Se recomienda un adecuado distanciamiento entre plantas y entre hileras. Una recolección de los frutos infectados.	Daconil 720 FW 400 a 800 cc en 200 L de agua; Score 250 en dosis de 100-200 ml/200 L de agua. Benlate (05 g/L).
Oidio o ceniza Oidium sp.	Polvo de color blanco grisáceo a gris ceniza, que afecta el haz de las hojas, lesiones necróticas de color negro.	Se recomienda realizar aplicaciones preventivas azufre..	Azufre micronizado en dosis de 1 kg/200 L de agua,
Mosca blanca, <i>Trialeurodes</i> sp., <i>Bemisia tabaci</i> ,	En las hojas de plantas jóvenes se observaron altas poblaciones de adultos, las colonias de estadios inmaduros tales como huevos, ninfas y pupas).	Se colectó a <i>Encarsia</i> sp. (Hymenoptera: Aphelinidae) parasitando ninfas de <i>Trialeurodes</i> sp.	(Imidacloprid) 0,5 L/ha, (<i>Thiamethoxam</i>) 0,1-0,2 kg/ha (<i>Beauveria bassiana</i>) 0,1-0,2 kg/ha
Áfidos o pulgones, <i>Macrosiphum</i>	Las ninfas y adultos chupan savia y en altas poblaciones favorecen el crecimiento de hongos saprófitos de fumagina	Los áfidos pueden ser afectadas por larvas depredadoras <i>Scymnus</i> sp. el parasitoide <i>Lisiphlebus</i> .	Actara en dosis de 200-300 g/ha. o 100 g en 200 L de agua.
Chinche de las frutas, <i>Veneza zonata</i> (= <i>Leptoglossus zonatus</i>)	Las ninfas y adultos atacan hojas y frutos, las	Se recomienda recolectar los frutos diseminados por el suelo y controlar la presencia del chinche patón,	Tamayo (2001) recomienda aplicar el insecticida Malathion 57% EC en dosis de 2,0 a 2,5 ml/L.

(Debrot, et al. 2005, Tamayo, J. 2001)

ANEXO C. Fotos de las diferentes actividades desarrolladas en la investigación.

			
<p>Foto. Trabajo de laboratorio, siembra de polen</p>		<p>Foto. Trabajo de laboratorio</p>	
			
<p>Siembra de polen en cajas petri conteniendo pesticidas</p>		<p>Incubadora conteniendo las cajas Petri con polen</p>	
			
<p>Observación del polen directamente sobre la solución nutritiva</p>		<p>Placa de Neubauer para contar el polen germinados.</p>	
			
<p>Morfología del grano de polen de mora de Castilla</p>		<p>Grano de polen germinado de tomate de árbol</p>	

 <p>2012/10/04</p>	
<p>Polen de tomate de árbol germinado.</p>	<p>Escala en lente ocular con la que se midió el grano de polen</p>
	
<p>Racimo floral de tomate de árbol con todos los estadios florales</p>	<p>Flor de tomate de árbol en anthesis</p>
	
<p>Flor de mora de Castilla en corona</p>	<p>Estadios fenológicos de la flor de tomate de árbol.</p>
 <p>HV mag WD HFW det spot 20 µm 2.50 kV 6 000 x 10.0 mm 49.7 µm ETD 3.5 Quanta</p>	 <p>HV mag WD HFW det spot 10 µm 12.50 kV 10 000 x 9.0 mm 29.8 µm ETD 4.0 Quanta</p>
<p>Polen mora de Castilla acción Fungbacter visto en microscopia electrónica</p>	<p>Polen tomate de árbol con Fungbacter visto en microscopia electrónica de barrido</p>

