

Manual pollination in two tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot. ex Horm.) varieties under greenhouse conditions

Polinización manual en dos variedades de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot. ex Horm.) en invernadero

Aureliano Peña-Lomelí; Natanael Magaña-Lira*; Adrián Gámez-Torres; Fredy Ángel Mendoza-Celino; Mario Pérez-Grajales

Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Fitotecnia. Carretera México-Texcoco km 38.5, Chapingo, Estado de México, C. P. 56230, MÉXICO. *Corresponding author: mlnatanael@gmail.com

Abstract

Manual pollination used in breeding programs is costly because it requires a large amount of labor, so it is necessary to optimize the process. The aim of this study was to determine the optimal time to carry out manual pollination efficiently in tomatillo. Closed flower buds with yellow coloration were covered and five manual pollination times (days one, two, three, four and five) and one non-pollinated control were evaluated in two families of the Diamante and Manzano varieties. A 5 x 2 x 2 factorial treatment design was used in a randomized complete block experimental design with four replicates. The experimental unit consisted of 10 floral buds. The number of fruits (NF), fruit weight (FW), total seed weight (TSW), total number of seeds (TNS) and weight of 100 seeds (W100S) were evaluated. The highest efficiency was obtained when manual pollination was carried out on the second and third days. The Diamante variety had a higher NF (7.8), TSW (2.315 mg) and TNS (1.415.8), while Manzano Tepetlixpa had higher FW (420.17 g) and W100S (191,538 mg). Family one of the Diamante variety was superior in TNS, but family two had larger seed size. In Manzano Tepetlixpa there were no differences between families. On the other hand, Diamante reached its highest seed production with pollination on day three, without statistically exceeding day two. Manzano had higher seed production when pollinated on day two, but did not statistically exceed day three. Therefore, it was determined that the optimal period of pollination in tomatillo is between two and three days after having covered the floral buds.

Keywords: fertilization, self-incompatibility, crosses, tomato races.

Resumen

La polinización manual utilizada en programas de mejoramiento genético es costosa debido a que requiere de gran cantidad de mano de obra, por lo que es necesario optimizar el proceso. El objetivo del presente estudio fue determinar el momento óptimo para realizar la polinización manual de manera eficiente en tomate de cáscara. Se cubrieron botones florales cerrados con coloración amarilla y se evaluaron cinco tiempos de polinización manual (días uno, dos, tres, cuatro y cinco) y un testigo sin polinizar, en dos familias de las variedades Diamante y Manzano. Se usó un diseño de tratamientos factorial 5 x 2 x 2 en un diseño experimental de bloques completos al azar, con cuatro repeticiones. La unidad experimental consistió de 10 botones florales. Se evaluó el número de frutos (NF), peso de frutos (PF), peso total de semillas (PTS), número total de semillas (NTS) y peso de 100 semillas (P100S). La mayor eficiencia se obtuvo cuando se realizó la polinización manual al segundo y tercer días. La variedad Diamante tuvo mayor NF (7.8), PTS (2,315 mg) y NTS (1,415.8); mientras que Manzano Tepetlixpa presentó mayor PF (420.17 g) y P100S (191.538 mg). La familia uno de la variedad Diamante fue superior en NTS, pero la familia dos tuvo mayor tamaño de semilla. En Manzano Tepetlixpa no se presentaron diferencias entre familias. Por otra parte, Diamante alcanzó su mayor producción de semilla con polinización en el día tres, sin superar estadísticamente al día dos. Manzano tuvo mayor producción de semilla cuando se polinizó el día dos, pero no superó estadísticamente al día tres. Por lo anterior, se determinó que el periodo óptimo de polinización en tomate de cáscara es entre los dos y tres días de haber cubierto los botones florales.

Palabras clave: fecundación, autoincompatibilidad, cruces, razas de tomate.



Introduction

The genus *Physalis* has great cultural, economic and biological importance in Mexico. It has been present in the Mexican diet since pre-Columbian times and its use continues to this day. It is mainly consumed fresh, although it is also industrialized, both for the domestic market and for export. Some species of this genus have medicinal and ornamental uses, which are little known and exploited (Santiaguillo-Hernández & Blas-Yáñez, 2009). In particular, the tomatillo grown in Mexico is *Physalis ixocarpa* Brot. ex Horm. (Santiaguillo-Hernández, Cedillo-Portugal, & Cuevas-Sánchez, 2010). It can be cultivated in both irrigated and rain-fed systems, and practically all year round (spring-summer cycle and autumn-winter cycle). Also, the tomatillo is grown in diverse climatic conditions, which suggests great adaptability on the part of the species (Peña-Lomelí & Santiaguillo-Hernández, 1999; Santiaguillo-Hernández et al., 2010).

Among vegetables, the tomatillo ranks sixth in terms of area cultivated in Mexico. From 2006 to 2015, an average of 49,177 ha of planted area per year was maintained (Sistema de Información Agrícola y Pesquera - Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación [SIAP-SAGARPA], 2015). The importance acquired by this crop is due to the increase in per capita consumption (4.5 kg) at the national level, as well as an increase in its exports to the United States and Canada, the main market for green tomatoes, although there are also limited purchases by The Netherlands and the United Kingdom (Peña-Lomelí et al., 2002). The national average yield ($16.10 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$) is considered low in relation to the productive potential of the crop estimated at $40 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$. The causes of the low yield may be the use of varieties with low productive potential, inefficient production techniques, use of low quality seed and inefficient pest and disease control (Peña-Lomelí, Ponce-Valerio, Sánchez-del Castillo, & Magaña-Lira, 2014; Peña-Lomelí & Santiaguillo-Hernández, 1999; SIAP-SAGARPA, 2015).

In tomatillo there is self-incompatibility, which is given by two independent loci with multiple alleles. Pollen is incompatible when one or more alleles are present in both the pollen grain and the style. In the process between pollination and fertilization, pollen usually does not germinate, but if it does, the pollen tube cannot penetrate through the stigma (Pandey, 1957). As a consequence, its breeding by hybridization based on inbred lines is complicated, especially if adequate pollination techniques are not available (Peña-Lomelí & Márquez-Sánchez, 1990). However, several studies indicate that breeding by interpopulation hybridization is promising for the tomatillo, since high intra and inter varietal heterosis values have been obtained (Peña-

Introducción

El género *Physalis* tiene una importancia cultural, económica y biológica alta en México. Ha estado presente en la dieta mexicana desde tiempos precolombinos y su uso perdura hasta nuestros días. Se consume principalmente en fresco, aunque también se industrializa, tanto para el mercado nacional como para exportación. Algunas especies de este género tienen usos medicinales y ornamentales, que son escasamente conocidos y aprovechados (Santiaguillo-Hernández & Blas-Yáñez, 2009). En particular, el tomate de cáscara cultivado en México es *Physalis ixocarpa* Brot. ex Horm. (Santiaguillo-Hernández, Cedillo-Portugal, & Cuevas-Sánchez, 2010). Se puede cultivar tanto en riego como temporal, y prácticamente todo el año (ciclo primavera-verano y otoño-invierno). Asimismo, el tomate se cultiva en condiciones climáticas diversas, lo que sugiere gran adaptabilidad de la especie (Peña-Lomelí & Santiaguillo-Hernández, 1999; Santiaguillo-Hernández et al., 2010).

Entre las hortalizas, el tomate de cáscara ocupa el sexto lugar en cuanto a superficie cultivada en México. De 2006 al 2015 se ha mantenido un promedio de 49,177 ha de superficie sembrada por año (Sistema de Información Agrícola y Pesquera - Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación [SIAP-SAGARPA], 2015). La importancia adquirida por este cultivo se debe al aumento en el consumo per cápita (4.5 kg) a nivel nacional, así como al incremento de su exportación a Estados Unidos de Norteamérica y Canadá, principal mercado del tomate verde, aunque se tienen compras incipientes de Países Bajos y Reino Unido (Peña-Lomelí et al., 2002). El rendimiento promedio nacional ($16.10 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$) se considera bajo en relación con el potencial productivo del cultivo que se estima en $40 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$. Las causas del rendimiento bajo pueden ser el uso de variedades con potencial productivo bajo, técnicas de producción ineficientes, uso de semilla de baja calidad y control ineficiente de plagas y enfermedades (Peña-Lomelí, Ponce-Valerio, Sánchez-del Castillo, & Magaña-Lira, 2014; Peña-Lomelí & Santiaguillo-Hernández, 1999; SIAP-SAGARPA, 2015).

En tomate de cáscara existe autoincompatibilidad, que está dada por dos loci independientes con alelos múltiples. El polen es incompatible cuando uno o más alelos están presentes tanto en el grano de polen como en el estilo. En el proceso entre polinización y fecundación, el polen generalmente no llega a germinar, pero si lo hace, el tubo polínico no puede penetrar a través del estigma (Pandey, 1957). Como consecuencia, su mejoramiento genético por hibridación con base en líneas endogámicas es complicado, sobre todo si no se cuenta con técnicas de polinización adecuadas (Peña-Lomelí & Márquez-Sánchez, 1990). No obstante,

Lomelí, Molina-Galán, Márquez-Sánchez, & Sahagún-Castellanos, 1999; Peña-Lomelí et al., 1998; Sahagún-Castellanos, Gómez-Ruiz, & Peña-Lomelí, 1999; Santiaguillo-Hernández, Cervantes-Santana, & Peña-Lomelí, 2004).

Taking advantage of the heterosis in tomatillo implies, among other things, having an efficient technique for the realization of manual crosses. In this sense, due to self-incompatibility, cross-pollination (either through sibling crosses or from plant to plant) is facilitated, since in general it is not necessary to emasculate the flowers crossed (Peña-Lomelí & Márquez-Sánchez, 1990). In this regard, Santiaguillo-Hernández, Cervantes-Santana, Peña-Lomelí, Molina-Galán, and Sahagún-Castellanos (2005) mention that self-incompatibility in tomatillo is not complete and possibly lower in some varieties, while Mulato-Brito, Peña-Lomelí, Sahagún-Castellanos, Villanueva-Verduzco, and López-Reynoso (2007) report the existence of self-compatible mutants, which would imply the need to emasculate populations.

Tomatillo flowers are bisexual (perfect or hermaphroditic), solitary and emerge from the dichotomy of the branches. When the plant blossoms, it requires 30 to 32 °C. Temperatures above these values, during blossoming, can cause dehydration of the pollen tube, incomplete pollination and malformed fruits (Saray-Meza & Loya-Ramírez, 1977). In general, the flowers open before the dehiscence of the anthers occurs, between 8:00 and 12:00 in the day. Natural pollination in tomatillo is mostly performed by insects, mainly bees, although it can also be by the wind. Once the flower has been pollinated it closes and does not reopen, then it begins to wither and finally fall (Pérez-Grajales, Márquez-Sánchez, & Peña-Lomelí, 1998). At 55 days after pollination, tomatillo seed can be considered physiologically mature (Pérez-Camacho et al., 2012).

Since the tomatillo requires cross-pollination to form fruits and inside a greenhouse the wind circulation is minimal and insufficient to move the pollen, natural pollination is deficient (Santiaguillo-Hernández, Vargas-Ponce, Grimaldo-Juárez, Sánchez-Martínez, & Magaña-Lira, 2009). This implies that commercial greenhouse tomatillo production has not been efficient because, among other factors, pollination is difficult and consequently reduces yield (Peña-Lomelí et al., 2014; Ponce-Valerio et al., 2012). However, when manual crosses are performed for breeding, the greenhouse can be used, since low natural fertilization allows most of the fruits under development to be the product of manual pollination.

Therefore, when it comes to breeding, it is necessary to determine the appropriate time to perform manual pollination in controlled environments in order to

diversas investigaciones indican que el mejoramiento por hibridación interpoblacional es promisorio para el tomate de cáscara, ya que se han obtenido valores altos de heterosis intra e inter varietal (Peña-Lomelí, Molina-Galán, Márquez-Sánchez, & Sahagún-Castellanos, 1999; Peña-Lomelí et al., 1998; Sahagún-Castellanos, Gómez-Ruiz, & Peña-Lomelí, 1999; Santiaguillo-Hernández, Cervantes-Santana, & Peña-Lomelí, 2004).

Aprovechar la heterosis en tomate de cáscara implica, entre otras cosas, contar con una técnica eficiente para la realización de cruza manuales. En este sentido, debido a la autoincompatibilidad, la polinización cruzada (ya sea por medio de cruza fraternales o de planta a planta) se facilita, pues en general no es necesario emascar las flores objeto del cruzamiento (Peña-Lomelí & Márquez-Sánchez, 1990). Al respecto, Santiaguillo-Hernández, Cervantes-Santana, Peña-Lomelí, Molina-Galán, y Sahagún-Castellanos (2005) mencionan que la autoincompatibilidad en tomate de cáscara no es completa y posiblemente es menor en algunas variedades. Mientras que Mulato-Brito, Peña-Lomelí, Sahagún-Castellanos, Villanueva-Verduzco, y López-Reynoso (2007) reportan la existencia de mutantes autocompatibles, lo cual implicaría la necesidad de emascar las poblaciones.

Las flores del tomate de cáscara son bisexuales (perfectas o hermafroditas), solitarias y salen de la dicotomía de las ramas. Cuando la planta entra a floración requiere de 30 a 32 °C. Con temperaturas arriba de estos valores, durante la floración, se puede provocar deshidratación del tubo polínico, polinización incompleta y frutos malformados (Saray-Meza & Loya-Ramírez, 1977). Por lo general, las flores abren antes de que ocurra la dehiscencia de las anteras, entre las 8:00 y 12:00 del día. La polinización natural en tomate de cáscara se realiza en su mayoría por insectos, principalmente abejas, aunque también puede ser por el viento. Una vez que la flor ha sido polinizada se cierra y no vuelve a abrirse, luego comienza a marchitarse para enseguida caer (Pérez-Grajales, Márquez-Sánchez, & Peña-Lomelí, 1998). A los 55 días después de la polinización, la semilla de tomate de cáscara se puede considerar fisiológicamente madura (Pérez-Camacho et al., 2012).

Dado que el tomate de cáscara requiere de la polinización cruzada para formar frutos y al interior de un invernadero la circulación del viento es mínima e insuficiente para mover el polen, la polinización natural es deficiente (Santiaguillo-Hernández, Vargas-Ponce, Grimaldo-Juárez, Sánchez-Martínez, & Magaña-Lira, 2009). Esto implica que la producción comercial de tomate de cáscara en invernadero, entre otros factores, no ha sido eficiente debido a que se dificulta la polinización y en consecuencia reduce el rendimiento (Peña-Lomelí et al., 2014; Ponce-Valerio et al., 2012). Sin embargo, cuando se realizan cruza manuales

achieve greater fruit and seed production. Some studies indicate that the manual fertilization of tomatillo in the greenhouse should be done when the flower buds are closed, since it has been found that the stigma is more receptive at this stage. By contrast, the anthers release pollen after the flower has opened. This technique is used in breeding programs, especially because it ensures the purity of the crosses that are made. However, precise knowledge is required to identify the ideal state of floral buds, without which its efficiency in pollinated flowers and seed produced is low (Peña-Lomelí et al., 1998; Santiaguillo-Hernández et al., 2005).

Based on the above, the aim of this research was to evaluate floral bud pollination times of two tomatillo varieties, in order to determine the optimal time to perform manual pollination efficiently in each of them to achieve the greatest fruit set and seed production, under the hypothesis that the best time will be after the floral bud is covered, and that there will be no difference between the varieties.

Materials and methods

The research work was carried out from October to December 2015 in the experimental field greenhouses of the Plant Science Department at the *Universidad Autónoma Chapingo* (UACH), Mexico (19° 29' 31.0" North latitude and 98° 52' 20.4" West longitude, at 2,250 masl). According to the Köppen classification modified by García (1988), the area has a Cb(Wo)(W)b(i) climate, defined as temperate subhumid with summer rains, winter precipitation of less than 5 %, little thermal oscillation, cool summers and average annual precipitation of 636 mm. The mean annual temperature is between 12 and 18 °C, with less than 5 °C variation.

The varieties used in this study were Diamante and Manzano Tepetlixpa, both registered in the name of the *Universidad Autónoma Chapingo* (Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas [SNICS], 2016) with breeder's title 1583 and 1584, respectively. For each one, two high-yield maternal half-sib families (MHSF) were selected, with the purpose of generating inbreeding through sibling crosses and heterosis by interfamilial hybridization. The four families obtained were those studied in the present study.

Diamante is the result of selective breeding and arises from the hybridization of the CHF1 Chapingo and Puebla SM3 varieties. Its name derives from the brilliance of the color of its fruit and it has a short shelf life. It is a precocious plant of semi-erect bearing with elliptical, green leaves and average-sized flowers. Its fruits are large with three loci; the fruits are green with medium firmness, a completely closed calyx cover and yellowish-brown seeds. It is adapted to the climatic conditions of

para el mejoramiento genético se puede utilizar el invernadero, ya que la baja fecundación natural permite que la mayoría de los frutos en desarrollo sean producto de la polinización manual.

Por lo anterior, cuando se trata de mejoramiento genético, es necesario determinar el tiempo adecuado para realizar la polinización manual en ambientes controlados con el fin de lograr mayor producción de frutos y semillas. Algunos estudios indican que la fecundación manual de tomate de cáscara en invernadero debe hacerse cuando los botones florales están cerrados, pues se ha encontrado que el estigma es más receptivo en esta etapa. En contraste, las anteras liberan polen después de que la flor ha abierto. Esta técnica es usada en programas de mejoramiento genético, sobre todo porque garantiza la pureza de las cruces que se realizan. No obstante, se requiere conocimiento preciso para identificar el estado ideal de los botones florales, sin el cual su eficiencia en flores polinizadas y semilla producida es baja (Peña-Lomelí et al., 1998; Santiaguillo-Hernández et al., 2005).

Con base en lo antes mencionado, en el presente trabajo se evaluaron tiempos de polinización de botones florales de dos variedades de tomate de cáscara, con el objetivo de determinar el momento óptimo para realizar la polinización manual de manera eficiente en cada una de ellas para lograr el mayor amarre de frutos y producción de semillas. Esto bajo las hipótesis de que el mejor momento será después de que se cubra el botón floral, y de que no habrá diferencia entre las variedades.

Materiales y métodos

El presente trabajo de investigación se realizó de octubre a diciembre de 2015 en los invernaderos del campo experimental del Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo (UACH), México (19° 29' 31.0" latitud norte y 98° 52' 20.4" longitud oeste, a 2,250 msnm). De acuerdo con la clasificación de Köppen modificada por García (1988), el clima es Cb(Wo)(W)b(i), definido como templado subhúmedo con lluvias en verano, precipitación invernal menor a 5 %, poca oscilación térmica, veranos frescos y régimen de precipitación media anual de 636 mm. La temperatura media anual se ubica entre 12 y 18 °C, con variación menor a 5 °C.

Las variedades utilizadas en este estudio fueron Diamante y Manzano Tepetlixpa, ambas registradas a nombre de la Universidad Autónoma Chapingo (Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas [SNICS], 2016) con título de obtentor 1583 y 1584, respectivamente. Para cada una se seleccionaron dos familias de medios hermanos maternos (FMHM) de alto rendimiento, con el propósito de generar endogamia por medio de cruces fraternales y heterosis

the Valles Altos region (Mexico, Tlaxcala, Puebla and Hidalgo) in the spring-summer cycle, and has a yield of 30 t·ha⁻¹ or more under irrigation conditions with mulch (Sánchez-Martínez & Peña-Lomelí, 2015).

On the other hand, Manzano Tepetlixpa is a variety obtained by selective breeding and its name derives from the town where the original material was collected (Tepetlixpa, municipality of the State of Mexico). It is a precocious plant, of erect bearing, with elliptical, green leaves and average-sized flowers. Its fruits have three loci; the fruits are large, sweet and yellow with medium firmness and a completely closed, ribbed calyx cover. It has medium-sized, yellow brown seeds. It is distributed mainly in Mexico and Morelos (Cuautla) and has a yield of 30 t·ha⁻¹ or more in irrigation and trellis conditions (Sánchez-Martínez & Peña-Lomelí, 2015).

Three factors were studied. The first was time (in days), with five levels, which were the five days in which pollination was performed daily. The second was variety, corresponding to two tomatillo populations (Diamante and Manzano Tepetlixpa). The third was family, which consisted of two levels within each variety (F1 and F2). This generated a full 5 x 2 x 2 factorial treatment design. Additionally, a control was included, which consisted of covered flowers without pollination, in order to verify that there were no self-compatible mutants within the populations studied (Mulato-Brito et al., 2007).

The experiment was established in the 2015 autumn-winter cycle, under a randomized complete design with four replicates. The experimental unit consisted of ten floral buds per treatment. The crop was grown under greenhouse conditions with hydroponics; as a substrate, fine-grained red tezontle was used and the nutrient solution used was that of Steiner (Steiner, 1984).

For the pollination process, ten floral buds of each experimental unit were covered with flat glassine bags measuring 4 cm wide by 7 cm long, which were closed by a fold with the aid of a number three clip. The criterion for choosing the flowers was that they were completely closed, but that the petals already had a yellow tone. According to the treatment assigned to each experimental unit, manual pollination was carried out on days one (corresponding to the time when the buds were covered), two, three, four and five. In the control, the flowers were left covered all the time.

To pollinate, pollen was collected (in a Petri dish 6 cm in diameter) from the open flowers of all the plants of the replicate for each family. Subsequently, the flowers corresponding to that day were identified and pollinated one by one. To do this, the bag was removed, then, with the aid of a number 0 camel hair brush, pollen was placed on the stigma and the flower was again covered with

por hibridación interfamiliar. Las cuatro familias obtenidas fueron las estudiadas en el presente trabajo.

Diamante es resultado de la mejora por selección y surge de la hibridación de las variedades CHF1 Chapingo y Puebla SM3. Su nombre deriva de la brillantez del color del fruto y presenta una vida de anaquel corta. Es una planta precoz de porte semierecto con hojas elípticas de color verde y flores de tamaño medio. Sus frutos son grandes con tres lóculos, verdes y firmeza media, con cobertura del cáliz completamente cerrado y con semillas de color amarillo pardo. Se adapta a las condiciones climáticas de la región Valles Altos (México, Tlaxcala, Puebla e Hidalgo) en el ciclo primavera-verano, y tiene un rendimiento de 30 t·ha⁻¹ o más en condiciones de riego con acolchado (Sánchez-Martínez & Peña-Lomelí, 2015).

Por otro lado, Manzano Tepetlixpa es una variedad mejorada por selección y su nombre deriva del poblado donde se colectó el material original (Tepetlixpa, municipio del estado de México). Es una planta precoz, de porte erecto, con hojas elípticas de color verde y flores de tamaño medio. Sus frutos tienen tres lóculos, son grandes, dulces, de color amarillo y firmeza media, con cobertura del cáliz completamente cerrada y acostillado. Presenta semillas medianas de color amarillo pardo. Se distribuye principalmente en México y Morelos (Cuautla) y tiene un rendimiento de 30 t·ha⁻¹ o más en condiciones de riego y espaldera. (Sánchez-Martínez & Peña-Lomelí, 2015).

Los factores estudiados fueron tres. El primero fue tiempo (en días), con cinco niveles, que fueron los cinco días en que se polinizó diariamente. El segundo fue variedad, al cual correspondieron dos poblaciones de tomate de cáscara (Diamante y Manzano Tepetlixpa). El tercero fue familia, que constó de dos niveles dentro de cada variedad (F1 y F2). Esto generó un diseño de tratamientos factorial completo 5 x 2 x 2. Adicionalmente, se incluyó un testigo, el cual consistió en flores cubiertas sin polinizar, con el fin de verificar que no existieran mutantes autocompatibles dentro de las poblaciones estudiadas (Mulato-Brito et al., 2007).

El experimento se estableció en el ciclo otoño-invierno de 2015, bajo un diseño de bloques completos al azar con cuatro repeticiones. La unidad experimental constó de diez botones florales por tratamiento. El cultivo se desarrolló bajo invernadero con hidroponía; como sustrato se usó tezontle rojo de grano fino y la solución nutritiva utilizada fue la de Steiner (Steiner, 1984).

Para el proceso de polinización, se cubrieron diez botones florales de cada unidad experimental con bolsas de glassine planas de 4 cm de ancho por 7 cm de largo, las cuales se cerraron mediante un doblez con la ayuda de un clip del número tres. El criterio para elegir

the bag. Once fertilization occurred, the corolla dried up and the development of the calyx began (ten days after pollination). At that time, the bag was removed to prevent the fruit from forming. The fruits in development were identified with number two hang tags.

The harvest was carried out 75 days after pollination. The variables evaluated are described below. Number of fruits (NF): fruit set per treatment was quantified. Fruit weight (FW, g): fruits obtained from each experimental unit were weighed on an OHAUS® 5 K digital balance. Total seed weight (TSW, mg) and weight of 100 seeds (W100S, mg) of each experimental unit. Both evaluations were made in the ecology laboratory of UACH's Plant Science Department with a GRAM SVI® precision laboratory balance. Finally, the total number of seeds (TNS) was determined indirectly using the following equation:

$$TNS = \frac{\text{Total seed weight}}{\text{Weight of 100 seeds}} \times 100$$

In the case of the experimental units in which a small number of seeds was obtained, a direct count was made.

With the data obtained, an analysis of variance was carried out on the basis of the randomized complete block experimental design, for which Statistical Analysis System software (SAS, 2002) was used. Subsequently, Tukey's range test ($\alpha \leq 0.05$) was performed for the factors whose effect was significant. In those variables that showed significant interactions, tests were carried out to compare the means of the levels of one factor with each of the levels of the other factor.

Results and discussion

Analysis of variance

The analysis of variance (Table 1) indicates that for the variety (VAR) factor there were significant effects ($\alpha \leq 0.01$), which implies that the five variables evaluated behave differently for each variety. This same effect was observed in the time (TIM) factor on NF, FW, TSW and TNS, which indicates that the pollination time affects the number of fruits and seeds harvested, but not their size. As regards the family nested in variety [FAM(VAR)], significant effects ($\alpha \leq 0.01$) were found in TNS and W100S, which means that there is a difference between families of the same variety, which is reflected in a different amount and size of seed.

The variety x time interaction was significant ($\alpha \leq 0.01$) for the FW and TNS variables, which implies that there is a different optimal pollination time for each

las flores fue que estuvieran completamente cerradas, pero que los pétalos ya presentaran tonalidad amarilla. De acuerdo con el tratamiento asignado a cada unidad experimental, se realizó la polinización manual en los días uno (que corresponde al momento en que se cubrieron los botones), dos, tres, cuatro y cinco. En el testigo las flores se dejaron cubiertas todo el tiempo.

Para realizar la polinización se colectó polen (en una caja de Petri de 6 cm de diámetro) de las flores abiertas de todas las plantas de la repetición para cada familia. Posteriormente, se identificaron las flores correspondientes a ese día y se polinizaron una a una. Para ello, se retiró la bolsa, después, con la ayuda de un pincel de pelo de camello del número 0, se colocó polen en el estigma y se volvió a cubrir la flor con la bolsa. Una vez que ocurrió la fecundación, la corola se secó e inició el desarrollo del cáliz (diez días después de la polinización). En ese momento, se retiró la bolsa con el propósito de no impedir la formación del fruto. Los frutos en desarrollo se identificaron con etiquetas de colgar del número dos.

La cosecha se realizó a los 75 días después de haber realizado la polinización. Las variables evaluadas se describen a continuación. Número de frutos (NF), se cuantificaron los frutos amarrados por cada tratamiento. Peso de frutos (PF, g), se pesaron los frutos obtenidos de cada unidad experimental en una balanza digital marca OHAUS® 5 K. Peso total de semillas (PTS, mg) y peso de 100 semillas (P100S, mg) de cada unidad experimental. Ambas evaluaciones se hicieron en el laboratorio de ecología del Departamento de Fitotecnia de la UACH con una balanza precisión laboratorio GRAM SVI®. Finalmente, se determinó el número total de semillas (NTS) de forma indirecta utilizando la ecuación siguiente:

$$NTS = \frac{\text{Peso total de semilla}}{\text{Peso de 100 semillas}} \times 100$$

Para el caso de las unidades experimentales en que se obtuvo un reducido número de semillas se procedió a hacer el conteo directamente.

Con los datos obtenidos, se realizó un análisis de varianza de acuerdo con el diseño experimental de bloques completos al azar, para lo cual se usó el paquete estadístico *Statistical Analysis System* (SAS, 2002). Posteriormente, se realizaron comparaciones de medias de Tukey ($\alpha \leq 0.05$) para los factores cuyo efecto fue significativo. En aquellas variables que presentaron interacciones significativas, se efectuaron pruebas de comparación de medias de los niveles de un factor en cada uno de los niveles del otro factor.

Table 1. Mean squares of the analysis of variance of five variables evaluated in two families of the Diamante and Manzano Tepetlixpa tomatillo varieties (2015 autumn-winter cycle).**Cuadro 1. Cuadrados medios del análisis de varianza de cinco variables evaluadas en dos familias de las variedades Diamante y Manzano Tepetlixpa de tomate de cáscara (ciclo otoño-invierno de 2015).**

SV ¹ /FV ¹	DF/GL	NF	FW (g)/PF (g)	TSW (mg)/PTS (mg)	TNS/NTS	DF/GL	W100S (mg)/P100S (mg)
Block/Bloque	3	4.98	40752.9	1241434.6	319342.4	3	235.2
Variety/Variedad	1	17.11**	109076.5*	8070851.3**	6276480.8**	1	13852.3**
FAM(VAR)	2	0.16	35805.1	1487656.3	1095696.1*	2	2802.4**
Time/Tiempo	4	13.96**	326066.5**	13490055.0**	4996175.5**	4	787.7
VAR*TIM/ VAR*TIE	4	1.27	75718.7**	1123876.3	528129.6*	4	357.6
Error	65	1.83	20408.5	859192.3	246529.9	64	345.2
Total	79					78	
CV		17.11	31.77	37.67	34.99		10.44

¹SV: source of variation; FAM(VAR): family nested in variety; VAR*TIM: variety x time interaction; CV: coefficient of variation; DF: degrees of freedom; NF: number of fruits; FW: fruit weight; TSW: total seed weight; TNS: total number of seeds; W100S: weight of 100 seeds.

*, **: significant with $\alpha \leq 0.05$ and $\alpha \leq 0.01$, respectively.

¹FV: fuente de variación; FAM(VAR): familia anidada en variedad; VAR*TIE: interacción variedad x tiempo; CV: coeficiente de variación; GL: grados de libertad; NF: número de frutos; PF: peso de frutos; PTS: peso total de semillas; NTS: número total de semillas; P100S: peso de 100 semillas.

*, **: significativo con $\alpha \leq 0.05$ y $\alpha \leq 0.01$, respectivamente.

variety. Therefore, it is necessary to study each level of the time factor within each variety to identify the optimal pollination time that maximizes the amount of seeds harvested.

Comparison of means of the varieties

The results of the comparison of means between varieties (Table 2) show that Diamante had a higher NF, TSW and TNS, but lower FW and W100S, which indicates that this variety had fruits of less weight with more smaller seeds. For Manzano Tepetlixpa, the highest values ($\alpha \leq 0.01$) were obtained in FW and W100S, which shows that this variety has larger fruits than Diamond, but with fewer and larger seeds. In this regard, Peña-Lomelí et al. (2014) mention that the Diamante variety has large fruits (41 g·fruit⁻¹) and a yield

Resultados y discusión

Análisis de varianza

El análisis de varianza (Cuadro 1) indica que para el factor variedad (VAR) se tuvieron efectos significativos ($\alpha \leq 0.01$), lo cual implica que las cinco variables evaluadas se comportan de forma distinta para cada variedad. Este mismo efecto se observó en el factor tiempo (TIE) sobre NF, PF, PTS y NTS, lo que indica que el tiempo de polinización afecta la cantidad de frutos y semillas que se cosechan, mas no su tamaño. En lo que respecta a la familia anidada en variedad [FAM(VAR)], se encontraron efectos significativos ($\alpha \leq 0.01$) en el NTS y P100S, lo que quiere decir que existe diferencia entre familias de la misma variedad, que se ve reflejada en distinta cantidad y tamaño de semilla.

Table 2. Comparison of means of the variables evaluated in two tomatillo varieties (2015 autumn-winter cycle).**Cuadro 2. Comparación de medias de las variables evaluadas en dos variedades de tomate de cáscara (ciclo otoño-invierno de 2015).**

Variety/Variedad	NF ¹	FW (g)/PF (g)	TSW (mg)/PTS (mg)	TNS/NTS	W100S (mg)/P100S (mg)
Diamante	8.38 a ^z	412.8 b	2778.0 a	1699.0 a	164.9 b
Manzano Tepetlixpa	7.45 b	486.6 a	2142.8 b	1138.8 b	191.5 a
HSD/DMSH	0.60	63.8	414.0	221.7	8.4

¹NF: number of fruits; FW: fruit weight; TSW: total seed weight; TNS: total number of seeds; W100S: weight of 100 seeds; HSD: honest significant difference.

^zMeans with the same letter within a column do not differ statistically (Tukey, $\alpha \leq 0.05$).

¹NF: número de frutos; PF: peso de frutos; PTS: peso total de semillas; NTS: número total de semillas; P100S: peso de 100 semillas; DMSH: diferencia mínima significativa honesta.

^zMedias con la misma letra dentro de columna no difieren estadísticamente (Tukey, $\alpha \leq 0.05$).

of 787 g·plant⁻¹, while Manzano Tepetlixpa has a yield of 972 g·plant⁻¹ with medium-sized fruits. The difference in fruit size may be due to the fact that in this work selected Manzano Tepetlixpa families were evaluated.

Comparison of means of pollination time (days)

Pollination on the second day produced the highest ($\alpha \leq 0.01$) FW and TSW, while that on day three was higher ($\alpha \leq 0.01$) in NF and TNS (Table 3). However, the results obtained for these variables on both days do not differ statistically. This implies that manually pollinating on the second or third day, after the floral bud has been covered, yields the best results and can be used as a practice in breeding programs.

In the pollinations performed from the fourth day, the variables FW, TSW and TNS showed a significant decrease compared to the second and third day. The same happened on the first day. The above indicates that pollinating closed floral buds, as recommended by Pérez-Grajales et al. (1998), is not the best technique to make crosses in tomatillo, as these should be covered one day and pollinated the next.

In the control (non-pollinated covered buds), only parthenocarpic fruits developed, so it was possible to quantify the NF and FW (data not shown), but no data was obtained for TSW, TNS and W100S. This confirms that in the populations used there were no self-compatible mutants that alter the results, such as those reported by Mulato-Brito et al. (2007).

La interacción variedad x tiempo fue significativa ($\alpha \leq 0.01$) para las variables PF y NTS, lo que implica que existe diferente tiempo óptimo de polinización para cada variedad. Por ello, es necesario estudiar cada nivel del factor tiempo dentro de cada variedad para identificar el momento óptimo de polinización que maximice la cantidad de semillas cosechadas.

Comparación de medias de las variedades

Los resultados de la comparación de medias entre variedades (Cuadro 2) muestran que Diamante presentó mayor NF, PTS y NTS, pero menor PF y P100S; lo que indica que esta variedad tuvo frutos de menor peso con más semillas de menor tamaño. Para Manzano Tepetlixpa se obtuvieron los mayores valores ($\alpha \leq 0.01$) en PF y P100S, lo cual muestra que esta variedad es de frutos más grandes con respecto de Diamante, pero con menos semillas y más grandes. Al respecto, Peña-Lomelí et al. (2014) mencionan que la variedad Diamante presenta frutos grandes (41 g·fruto⁻¹) y rendimiento de 787 g·planta⁻¹; mientras que Manzano Tepetlixpa tiene rendimiento de 972 g·planta⁻¹ con frutos de tamaño mediano. La diferencia en el tamaño del fruto puede deberse a que en este trabajo se evaluaron familias selectas Manzano Tepetlixpa.

Comparación de medias del tiempo de polinización (días)

La polinización al segundo día produjo el mayor ($\alpha \leq 0.01$) PF y PTS, mientras que la del día tres fue mayor ($\alpha \leq 0.01$) en NF y NTS (Cuadro 3). Sin embargo, los resultados obtenidos de estas variables en ambos

Table 3. Comparison of means of the variables evaluated on five different days in which manual pollination was carried out (2015 autumn-winter cycle).

Cuadro 3. Comparación de medias de las variables evaluadas en cinco días diferentes en los que se realizó la polinización manual (ciclo otoño-invierno de 2015).

Time (day)/ Tiempo (día)	NF ¹	FW (g)/PF (g)	TSW (mg)/PTS (mg)	TNS/NTS	W100S (mg)/ P100S (mg)
1	8.19 a ^z	410.8 b	1,740.6 bc	946.5 c	188.4 a
2	8.50 a	608.2 a	3,345.0 a	1,916.8 ab	176.3 ab
3	8.63 a	548.9 ab	3,311.3 a	2,000.3 a	169.4 b
4	7.94 a	443.1 b	2,597.5 ab	1,473.1 b	180.6 ab
5	6.31 b	237.6 c	1,307.5 c	757.8 c	175.3 ab
HSD/DMSH	1.34	141.7	919.5	492.6	18.6

¹NF: number of fruits; FW: fruit weight; TSW: total seed weight; TNS: total number of seeds; W100S: weight of 100 seeds; HSD: honest significant difference.

^zMeans with the same letter within each column do not differ statistically (Tukey, $\alpha \leq 0.05$).

¹NF: número de frutos; PF: peso de frutos; PTS: peso total de semillas; NTS: número total de semillas; P100S: peso de 100 semillas; DMSH: diferencia mínima significativa honesta.

^zMedias con la misma letra dentro de columna no difieren estadísticamente (Tukey, $\alpha \leq 0.05$).

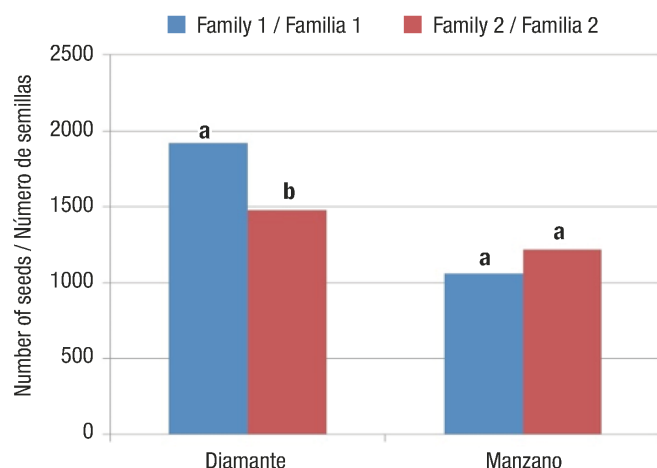


Figure 1. Total number of seeds (TNS) produced by fruits of the two families of the Diamante and Manzano Tepetlixpa varieties manually pollinated on five different days.

Within each variety, bars with the same letter do not differ statistically (Tukey, $\alpha \leq 0.05$).

Figura 1. Número total de semillas (NTS) producidas por frutos de las dos familias de las variedades Diamante y Manzano Tepetlixpa polinizadas manualmente en cinco días diferentes.

Dentro de cada variedad, barras con la misma letra no difieren estadísticamente (Tukey, $\alpha \leq 0.05$).

Analysis of families in each variety

This factor had significant effects for the TNS and W100S variables. In Figure 1 it can be seen that family one of the Diamante variety obtained significantly higher TNS than family two, whereas the Manzano Tepetlixpa families did not exhibit a significant difference in this same variable.

The W100S obtained from family one was significantly higher than that of family two, both of the Diamante variety, a difference that was not observed in Manzano Tepetlixpa (Figure 2).

Variety x time interaction

This interaction was found in FW and TNS and indicates that the behavior of the cultivars varies with the day on which the manual pollination was carried out.

When pollinating the third day, Diamante managed to reach a higher FW (Figure 3), but it did not statistically differ from days one, two and four, which indicates that with pollination during the first four days fruits of similar weight are obtained in the Diamante variety. On the other hand, Manzano Tepetlixpa reached its highest FW on the second day, although it did not statistically exceed the third day.

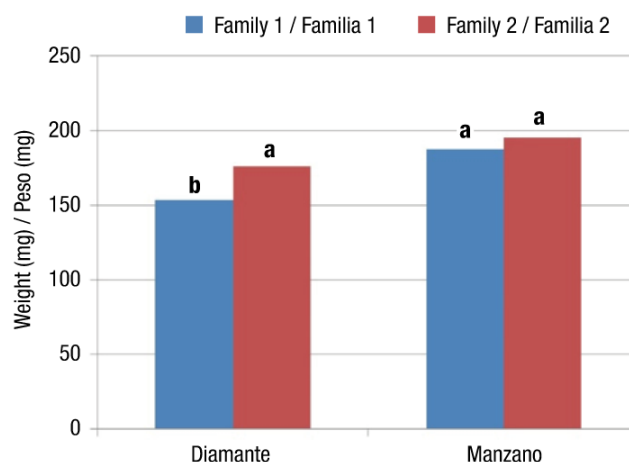


Figure 2. Weight of 100 Seeds (W100S) from the two families of the Diamante and Manzano Tepetlixpa varieties manually pollinated on five different days.

Within each variety, bars with the same letter do not differ statistically (Tukey, $\alpha \leq 0.05$).

Figura 2. Peso de 100 Semillas (P100S) de las dos familias de la variedad Diamante y Manzano Tepetlixpa polinizadas manualmente en cinco días diferentes.

Dentro de cada variedad, barras con la misma letra no difieren estadísticamente (Tukey, $\alpha \leq 0.05$).

días no difieren estadísticamente. Esto implica que polinizar manualmente al segundo o tercer día, después de que el botón floral ha sido cubierto, arroja los mejores resultados y puede utilizarse como práctica en programas de mejoramiento genético.

En las polinizaciones realizadas a partir del cuarto día, las variables de PF, PTS y NTS presentaron un decremento significativo con respecto del segundo y tercer día. Esto mismo ocurrió el primer día. Lo anterior indica que polinizar botones florales cerrados, como lo recomiendan Pérez-Grajales et al. (1998), no es la mejor técnica para hacer cruces en tomate de cáscara, pues estos deben ser cubiertos un día y polinizados al día siguiente.

En el testigo (botones cubiertos no polinizados) sólo se desarrollaron frutos partenocárpico, por lo que fue posible cuantificar el NF y PF (datos no mostrados), pero no se obtuvieron datos del PTS, NTS y P100S. Esto confirma que en las poblaciones utilizadas no se presentaron mutantes autocompatibles que alteraran los resultados, como los reportados por Mulato-Brito et al. (2007).

Análisis de familias en cada variedad

Este factor tuvo efectos significativos para las variables NTS y P100S. En la Figura 1 se puede observar que la

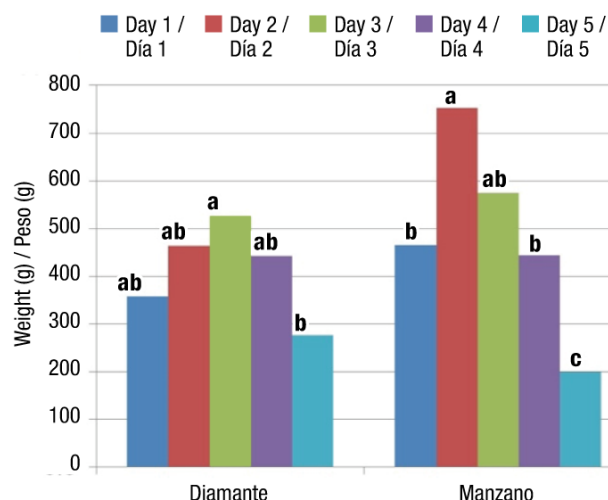


Figure 3. Fruit weight (FW) of the Diamante and Manzano Tepetlixpa tomatillo varieties manually pollinated on five different days. Within each variety, bars with the same letter do not differ statistically (Tukey, $\alpha \leq 0.05$).

Figura 3. Peso de Frutos (PF) de las variedades de tomate de cáscara Diamante y Manzano Tepetlixpa polinizadas manualmente en cinco días diferentes.

Dentro de cada variedad, barras con la misma letra no difieren estadísticamente (Tukey, $\alpha \leq 0.05$)

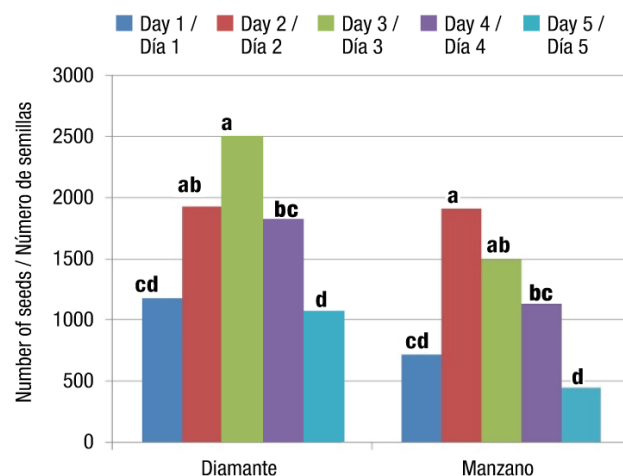


Figure 4. Total number of seeds (TNS) of the Diamante and Manzano Tepetlixpa tomatillo varieties manually pollinated on five different days. Within each variety, bars with the same letter do not differ statistically (Tukey, $\alpha \leq 0.05$).

Figura 4. Número total de semillas (NTS) de tomate de cáscara de las variedades Diamante y Manzano Tepetlixpa polinizadas manualmente en cinco días diferentes.

Dentro de cada variedad, barras con la misma letra no difieren estadísticamente (Tukey, $\alpha \leq 0.05$).

In Diamante the highest TNS was obtained by pollinating the flower on the third day, although this value did not differ statistically from those obtained on day two and four. For the Manzano Tepetlixpa variety, on the second day of pollination, a higher TNS was obtained, although it was similar to that obtained on day three (Figure 4).

When analyzing the variables FW and TNS together, it can be seen that both varieties obtained better results when pollinating on days two and three, since it is when better fruit development and a greater amount of seed is achieved. This indicates that the greatest amount of seed is obtained by pollinating on day three for Diamante and on day two for Manzano Tepetlixpa. The above differs from the findings reported by Pérez-Grajales et al. (1998), who point out that pollination should be done in closed flower buds, possibly because they used different varieties.

In summary, the findings of this research have helped to clarify the appropriate time interval to carry out manual pollination of the tomatillo. When pollinating the flowers two and three days after

familia uno de la variedad Diamante obtuvo significativamente mayor NTS que la familia dos; mientras que las familias de Manzano Tepetlixpa no presentaron diferencia significativa en esta misma variable.

El P100S obtenido de la familia uno fue significativamente mayor al de la familia dos, ambas de la variedad Diamante, diferencia que no se observó en Manzano Tepetlixpa (Figura 2).

Interacción variedad x tiempo

Esta interacción se encontró en el PF y el NTS e indica que el comportamiento de los cultivares varía con el día en el que se realizó la polinización manual.

Al realizar la polinización el tercer día, Diamante logró alcanzar un mayor PF (Figura 3), pero no difirió estadísticamente de los días uno, dos y cuatro; lo cual indica que con la polinización durante los primeros cuatro días se obtienen frutos de peso similar en la variedad Diamante. Por otra parte, Manzano Tepetlixpa alcanzó su PF mayor el segundo día, aunque no superó estadísticamente al tercer día.

having covered the buds, fruit set was not significantly increased with respect to day one recommended by Pérez-Grajales et al. (1998), but seed production is doubled. This represents a substantive improvement in the efficiency of manual crosses, either within a breeding program or in the regeneration of accessions safeguarded in germplasm banks.

Conclusions

The Diamante variety produced a high number of seeds per fruit, while Manzano Tepetlixpa produced fruits with few seeds but with greater weight.

The suggested period for manual pollination is between two and three days after having covered the floral buds. For Manzano Tepetlixpa, better results were obtained on day two, and for Diamante, day three.

In Diamante differences were found between families for number of seeds and weight of 100 seeds; this implies that there is diversity among the families of this variety, unlike those of Manzano Tepetlixpa that did not differ in relation to the same variables.

End of English version

References / Referencias

- García, E. (1988). *Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köpen (para adaptarlo a la República Mexicana)*. Ciudad de México: Universidad Autónoma de México. Retrieved from http://www.igeograf.unam.mx/sig/ utilidades/docs/pdfs/publicaciones/geo_siglo21/serie_ lib/modific_al_sis.pdf
- Mulato-Brito, J., Peña-Lomelí, A., Sahagún-Castellanos, J., Villanueva-Verduzco, C., & López-Reynoso, J. J. (2007). Self compatibility inheritance in tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot). *Vegetable Crops Research Bulletin*, 67, 17-24. doi: 10.2478/v10032-007-0026-4
- Pandey, K. K. (1957). Genetics of self-Incompatibility in *Physalis ixocarpa* Brot.- A new system. *American Journal of Botany*, 44(10), 879-887. Retrieved from <http://www.jstor.org/stable/2438909>
- Peña-Lomelí, A., Ponce-Valerio, J. J., Sánchez-del Castillo, F., & Magaña-Lira, N. (2014). Desempeño agronómico de variedades de tomate de cáscara en invernadero y campo abierto. *Revista Fitotecnica Mexicana*, 37(4), 381-391. Retrieved from <http://www.revistafitotecniamexicana.org/documentos/37-4/9r.pdf>
- Peña-Lomelí, A., Molina-Galán, J. D., Márquez-Sánchez, F., Sahagún-Castellanos, J., Ortiz-Cereceres, J., & Cervantes-Santana, T. (2002). Respuestas estimadas y observadas de tres métodos de selección en tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). *Revista Fitotecnica*

En Diamante el mayor NTS se obtuvo al polinizar la flor al tercer día, aunque este valor no difirió estadísticamente de los obtenidos el día dos y cuatro. Para la variedad Manzano Tepetlixpa, en el segundo día de polinización se logró obtener un mayor NTS, aunque similar al día tres (Figura 4).

Al analizar en conjunto las variables PF y NTS, se puede identificar que para ambas variedades se obtuvieron mejores resultados en los días dos y tres de polinización, pues es cuando se logra un mejor desarrollo de los frutos y la mayor cantidad de semilla. Esto indica que la mayor cantidad de semilla se obtiene al realizar la polinización el día tres para Diamante y en el día dos para Manzano Tepetlixpa. Lo anterior difiere de lo reportado por Pérez-Grajales et al. (1998), quienes señalan que la polinización debe hacerse en botones florales cerrados, lo que posiblemente se debe a que usaron diferentes variedades.

En suma, los hallazgos de esta investigación han ayudado a esclarecer el intervalo de tiempo adecuado para realizar la polinización manual del tomate de cáscara. Al polinizar las flores a los dos y tres días después de haber cubierto los botones no se incrementa significativamente el amarre de fruto respecto del día uno recomendado por Pérez-Grajales et al. (1998), pero sí se duplica la producción de semilla. Esto representa una mejora sustantiva en la eficiencia de las cruza manuales, ya sea dentro de un programa de mejoramiento genético o en la regeneración de accesiones resguardadas en bancos de germoplasma.

Conclusiones

La variedad Diamante produjo bastantes semillas por fruto, mientras que con Manzano Tepetlixpa se obtuvieron frutos con pocas semillas pero de mayor peso.

El periodo sugerido para la polinización manual es entre los dos y tres días después de haber cubierto los botones florales. Para Manzano Tepetlixpa se obtuvieron mejores resultados el día dos, y para Diamante, el día tres.

En Diamante se encontraron diferencias entre familias para número de semillas y peso de 100 semillas; esto implica que existe diversidad entre las familias de esta variedad, a diferencia de las de Manzano Tepetlixpa que no difirieron entre las mismas variables.

Fin de la versión en español

- Mexicana, 25(2), 171-178. Retrieved from <http://www.revistafitotecniamexicana.org/documentos/25-2/7a.pdf>
- Peña-Lomelí, A., Molina-Galán, J. D., Márquez-Sánchez, F., & Sahagún-Castellanos, J. (1999). Heterosis intravarietal en tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa*, Brot.). *Revista Fitotecnica Mexicana*, 22(2), 187-199.
- Peña-Lomelí, A., & Santiaguillo-Hernández, F. (1999). *Variabilidad genética de tomate de cáscara*. México: Universidad Autónoma Chapingo.
- Peña-Lomelí, A., Molina-Galán, J. D., Cervantes-Santana, T., Márquez-Sánchez, F., Sahagún-Castellanos, J., & Ortiz-Cereceres, J. (1998). Heterosis intervartietal en tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 4(1), 31-37. doi: 10.5154/r.rchsh.1997.12.093
- Peña-Lomelí, A., & Márquez-Sánchez, F. (1990). Mejoramiento genético de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) *Revista Chapingo*, 15(71-72), 84-88.
- Pérez-Grajales, M., Márquez-Sánchez, F., & Peña-Lomelí, A. (1998). *Mejoramiento genético de hortalizas*. Ciudad de México, México: Mundi Prensa.
- Pérez-Camacho, I., González-Hernández, V. A., Ayala-Garay, Ó. J., Carillo-Salazar, J. A., García-de los Santos, G., Peña-Lomelí, A., & Cruz-Crespo, E. (2012). Calidad fisiológica de semillas de *Physalis ixocarpa* en función de madurez a cosecha y condiciones de almacenamiento. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 3(1), 67-78. Retrieved from <http://cienciasagricolas.inifap.gob.mx/editorial/index.php/agricolas/article/view/720/692>
- Ponce-Valerio, J. J., Peña-Lomelí, A., Rodríguez-Pérez, J. E., Mora-Aguilar, R., Castro-Brindis, R., & Magaña-Lira, N. (2012). Densidad y poda en tres variedades de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot. ex Horm.) cultivado en invernadero. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 18(3), 325-332. doi: 10.5154/r.rchsh.2010.08.028
- Sahagún-Castellanos, J., Gómez-Ruiz, F., & Peña-Lomelí, A. (1999). Efectos de aptitud combinatoria en poblaciones de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 5(1), 23-27. doi: 10.5154/r.rchsh.1998.07.050
- Sánchez-Martínez, J., & Peña-Lomelí, A. (2015). *Variedades de uso común; un breve mirar a la riqueza mexicana*. México: SNICS-SAGARPA.
- Santiaguillo-Hernández, J. F., Cedillo-Portugal, E., & Cuevas-Sánchez, J. A. (2010). *Distribución Geográfica de Physalis spp. en México*. México: Universidad Autónoma Chapingo-Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas.
- Santiaguillo-Hernández, J. F., Vargas-Ponce, O., Grimaldo-Juárez, O., Sánchez-Martínez, J., & Magaña-Lira, N. (2009). *Aprovechamiento tradicional y moderno de tomate (Physalis) en México*. Chapingo, México: Universidad Autónoma Chapingo.
- Santiaguillo-Hernández, J. F., & Blas-Yáñez, S. (2009). Aprovechamiento tradicional de las especies de *Physalis* en México. *Revista de Geografía Agrícola*, 43, 81-86. Retrieved from <https://chapingo.mx/revistas/revistas/articulos/doc/rga-1418.pdf>
- Santiaguillo-Hernández, J. F., Cervantes-Santana, T., Peña-Lomelí, A., Molina-Galán, J. D., & Sahagún-Castellanos, J. (2005). Polinización controlada en tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 11(1), 67-71. doi: 10.5154/r.rchsh.2003.10.064
- Santiaguillo-Hernández, J. F., Cervantes-Santana, T., & Peña-Lomelí, A. (2004). Selección para rendimiento y calidad de fruto de cruza planta x planta entre dos variedades de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). *Revista Fitotecnica Mexicana*, 27(1), 85-91. Retrieved from <http://www.revistafitotecniamexicana.org/documentos/27-1/11a.pdf>
- Saray-Meza, C. R., & Loya-Ramírez, J. (1977). *El cultivo del tomate de cáscara en el estado de Morelos*. México: INIA-CIAMEC. Retrieved from <http://www.cofupro.org.mx/cofupro/images/contenidoweb/indice/unidadmorelos/libros/tomate/tomate1.pdf>
- Sistema de Información Agrícola y Pesquera - Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SIAP-SAGARPA). (2015). *Cierre de la producción agrícola por cultivo*. México: SIAP-SAGARPA. Retrieved from <http://www.siap.gob.mx> (consultado en noviembre 2016).
- Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (SNICS). (2016). *Catálogo Nacional de Variedades Vegetales*. Ciudad de México, México: Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación - Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas.
- Statistical Analysis System (SAS Institute). (2002). *Statistical Analysis System ver. 9.0*. Retrieved from <https://www.sas.com>
- Steiner, A. A. (1984). The universal nutrient solution. In: *Proceedings 6th International Congress on Soilless Culture* (pp. 633-650). Nueva York, USA: International Society for Soilless Culture