

Efecto de acondicionamientos sobre la calidad fisiológica de semillas y plántulas de *Passiflora  
edulis*

Alejandro Copete Parada

PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA

FACULTAD DE CIENCIAS

CARRERA DE BIOLOGIA

Santafé de Bogotá D.C.

2011

Efecto de acondicionamientos sobre la calidad fisiológica de semillas y plántulas de *Passiflora edulis*

Alejandro Copete Parada

TRABAJO DE GRADO

Presentado como Requisito parcial para optar al Título de  
BIOLOGO

---

INGRID SCHULER  
Decana Académico

---

ANDREA FORERO  
Directora del Programa Académico

Efecto de acondicionamientos sobre la calidad fisiológica de semillas y plántulas de *Passiflora edulis*

Alejandro Copete Parada

TRABAJO DE GRADO

Presentado como Requisito parcial para optar al título de

BIOLOGO

Claudia Ramírez Sandoval

Directora

CLAUDIA RAMIREZ SANDOVAL

Unidad de Biotecnología Vegetal

Directora

MARÍA DE PILAR MARQUEZ CARDONA

Unidad de Biotecnología Vegetal

Jurado

## NOTA DE ADVERTENCIA

ARTÍCULO 23, RESOLUCIÓN #13 DE 1946.

“La Universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos por sus alumnos en sus trabajos de tesis. Sólo velará porque no se publique nada contrario al dogma y a la moral católica y porque las tesis no contengan ataques personales contra persona alguna, antes bien se vean en ellas el anhelo de buscar la verdad y la justicia”

RESUMEN.....	8
1. INTRODUCCIÓN .....	9
2. PROBLEMA Y JUSTIFICACION.....	10
3. MARCO TEÓRICO.....	11
3.1.1 <u>Descripción taxonómica y morfológica.....</u>	11
3.1.2 <u>Distribución de cultivos de <i>Passiflora edulis</i> .....</u>	13
3.1.3 <u>Comportamiento de la producción durante el año.....</u>	13
3.1.4 <u>Propagación .....</u>	13
3.2 Germinación de las semillas.....	14
3.2.1 <u>Características generales de la germinación de semillas.....</u>	14
3.2.2 <u>Factores que influyen en la germinación de las semillas.....</u>	14
3.2.3 <u>Dormancia .....</u>	15
3.2.4 <u>Características fisiológicas que afectan la germinación y dormancia en Passifloras.....</u>	16
3.3 Tratamientos pre-germinativos.....	16
3.4 Acondicionamientos Fisiológicos.....	16
3.4.1 <u>Hidropiming.....</u>	17
3.4.2 <u>Osmopriming.....</u>	17
3.5 Certificación de material de siembra en Colombia.....	18
4. OBJETIVOS .....	18
4.1 Objetivo general.....	18
4.2 Objetivos específicos .....	18
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	18
5.1 Localización: .....	18
5.2 Población de estudio y muestreo.....	19
5.2.1 <u>Procedencia de los frutos.....</u>	19
5.2.2 <u>semillas de frutos de <i>Passiflora edulis</i> de tres procedencias.....</u>	19

5.3	Diseño Experimental.....	20
5.4	Tratamientos.....	20
5.5	Métodos.....	21
5.5.1	<u>Recolección y caracterización del fruto de <i>P. edulis</i></u> .....	21
5.5.2	<u>Extracción de las semillas</u> .....	21
5.5.3	<u>Prueba de viabilidad</u> .....	21
5.5.4	<u>Análisis del contenido de humedad</u> .....	21
5.5.5	<u>Curva de imbibición</u> .....	22
5.5.6	<u>Prueba de vigor</u> .....	22
5.5.7	<u>Pruebas de germinación</u> .....	22
5.5.7.1	<u>Acondicionamientos Fisiológicos</u> .....	22
5.5.7.1.1	<u><i>Osmopriming</i></u> .....	22
5.5.7.1.2	<u><i>Hydropriming</i></u> .....	23
5.5.7.3	<u>Secado de semillas</u> .....	23
5.5.7.4	<u>Siembra en bandejas de germinación</u> .....	23
5.5.8	<u>Análisis de la información</u> .....	23
5.5.9	<u>Análisis de germinación</u> .....	24
5.5.10	<u>Análisis de calidad de plántulas</u> .....	25
5.5.11	<u>Modelo aleatorio simple</u> .....	25
5.5.12	<u>Modelo factorial</u> .....	26
6	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	26
6.1	Recolección y Caracterización del fruto.....	26
6.2	Prueba de viabilidad.....	27
6.3	Análisis de contenido de humedad.....	27
6.4	Curva de imbibición.....	28

6.5 Prueba de Vigor.....	29
6.6 Pruebas de Germinación.....	30
6.7 Modelo aleatorio simple.....	30
6.8 Modelo factorial.....	39
6.9 Análisis de calidad de plántulas.....	40
6.10 Modelo factorial.....	42
7. CONCLUSIONES .....	42
8. BIBLIOGRAFÍA .....	43

## RESUMEN

Los cultivos de maracuyá en Colombia actualmente presentan problemas en su producción debido a múltiples complicaciones. Uno de sus principales problemas es que no hay semillas de calidad certificada para el establecimiento de cultivos. **Objetivos:** Evaluar el efecto de acondicionamientos fisiológicos sobre la calidad de semillas y plántulas de *Passiflora edulis*. **Materiales y métodos:** los frutos de maracuyá fueron colectados en tres fincas localizadas en municipio de La Plata en el departamento del Huila, los frutos fueron llevados al laboratorio de Fisiología Vegetal de la Pontificia Universidad Javeriana donde fueron caracterizados (peso, número de semillas, medidas morfométricas y grados Brix), posterior a esto se les removió el arilo a las semillas y se hicieron pruebas de humedad, viabilidad, imbibición y vigor según la metodología de la ISTA (International Seed Testing Association). Todas las semillas fueron escarificadas para la aplicación del acondicionamiento de *Hydropriming* que consistió en someter las semillas a bajas cantidades de agua con aireación durante 24 horas para posteriormente entrar en periodos de desecación. Los acondicionamientos de *Osmoprining* aplicados consistieron en agregar las semillas en soluciones con NaCl (-1 Y -3 MPa) y PEG (-1MPa) con aireación durante 24 horas para después también dejarlas en un periodo de desecación. Acto seguido las semillas fueron colocadas sobre papel de germinación entre un cuarto a temperatura de 25°C y un fotoperiodo de 12h luz y 12h oscuridad durante 24 días. Se tomaron los datos del número de semillas germinadas por día y a partir de estos datos se obtuvieron los índices de velocidad de germinación (Capacidad germinativa, Tasa de germinación, R25, R50', Valor pico, Germinación media diaria y Valor germinativo). Las semillas germinadas fueron colocadas en semilleros con turba para la evaluación del crecimiento de las mismas. Después de 30 días las plántulas fueron colectadas, y se tomaron medidas directas, usadas para obtener índices de crecimiento (Relación de Área Foliar, Área Foliar Especifica, Relación de Peso Foliar y Relación de Masa Radical) útiles para estimar la calidad de las plántulas. Las pruebas estadísticas usadas fueron ANOVA y Duncan para resultados con homogeneidad de varianzas y normalidad. La prueba de Kruscal-Wallis fue usada para resultados no paramétricos. **Resultados y Discusión:** El *Osmoprining* fue el tratamiento que estimulo mas el incremento en el % de germinación total, pero el *Hydropriming* tuvo más efecto en cuanto a la velocidad germinativa y sincronización de las mismas. **Conclusiones:** Se determinó que las semillas de la procedencia El Lote (a1) fueron las semillas con mejor calidad debido a que fueron las que respondieron mejor a los acondicionamientos aplicados.



## 1. INTRODUCCIÓN

El género *Passiflora* está constituido aproximadamente por 480 especies de herbáceas y trepadoras leñosas, siendo el género más amplio entre la familia Passifloraceae. La mayoría de estas especies se encuentran localizadas en regiones tropicales y subtropicales de América Latina y en menor proporción en Asia, Australia y África (1). Las especies de este género han tomado gran importancia económica debido a las propiedades organolépticas de sus frutos causando un interés comercial para la producción de cultivos de algunas de sus especies (2).

Colombia siendo un país con gran diversidad de hábitats y climas, proporciona factores ambientales adecuados para el crecimiento de gran variedad de plantas del género *Passiflora* y favorece la producción de algunos cultivos como el maracuyá (*Passiflora edulis*), considerado producto promisorio para la exportación (3). Sin embargo, la producción de estos cultivos tiene algunas limitantes causadas por factores ambientales como cambios en la humedad, la temperatura y la constitución del suelo. Otra limitante para el caso de la producción del maracuyá es la propagación, debido a que principalmente se hace por medio de semillas cuya germinación se ve restringida por factores intrínsecos y extrínsecos (4).

Se afirma que las semillas de las pasifloras presentan una germinación baja y errática debido a una dormancia impuesta por la rigidez de la cubierta seminal. La dormancia prolongada y la germinación poco uniforme son características que dificultan la propagación de estas plantas a escala comercial, por lo que se requiere semillas con una emergencia rápida para el establecimiento de cultivos, reduciendo los costos de producción (5).

Actualmente existen técnicas para romper la dormancia, promover la maduración e incitar la germinación de numerosos tipos de semillas (6). Sin embargo, el conocimiento en cuanto a la germinación, crecimiento y condiciones apropiadas para el adecuado crecimiento de las Pasifloras no ha sido explorado.

Algunos tratamientos como la escarificación mecánica y acondicionamientos fisiológicos de hidratación-deshidratación son técnicas actualmente usadas para facilitar la captación de agua y facilitar la elongación de la radícula en el primer caso y controlar procesos físicos y metabólicos durante el ciclo de maduración y desecación para el segundo caso, con el fin de facilitar el proceso de germinación (7).

El problema de investigación de este trabajo surge del interés por el estudio de posibles factores relacionados con la calidad fisiológica de las semillas de maracuyá para su germinación rápida y uniforme. El estudio tiene como objetivo evaluar la calidad de las semillas y plántulas de *Passiflora edulis* a partir de tratamientos fisiológicos de *Priming* (hidratación-deshidratación) para contribuir al

conocimiento en cuanto a aspectos de maduración y germinación de semillas con el fin de aportar metodologías y criterios en la generación de protocolos para la certificación de semillas de *Passiflora*.

## 2. PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

El maracuyá es una planta de hábito de crecimiento trepador del género *Passiflora*, se cultiva en sistemas productivos en la mayoría de las zonas tropicales y subtropicales de América, en países como Colombia, Perú, Venezuela, Brasil, Ecuador y Bolivia. En Colombia los departamentos con mayor producción son el Valle del Cauca, Meta y Huila (4), aunque también hay cultivos en Córdoba, Magdalena, Cundinamarca, Santander, Risaralda y Quindío (8).

Las áreas destinadas a cultivos de Maracuyá han aumentado desde los años 80 hasta el presente debido al aumento en la demanda del fruto como comestible y recientemente su uso en el campo de los cosméticos emolientes (2). La demanda internacional del fruto ha aumentado, privilegiando a Colombia como país productor, generando para el 2010 un valor cercano a los 3 millones de dólares (3).

A pesar de la alta demanda y productividad nacional de maracuyá de los años pasados, se han reducido recientemente las ganancias económicas para el país, como se observa en el sistema informativo regional del Huila, en donde la producción estaba aumentando durante los años 2007 y 2008 pero durante el 2009 decreció a pesar de que el área cosechada había aumentado (9); causado en parte por la irregularidad en cuanto a los patrones de lluvia con periodos de sequías y lluvias prolongadas, causando cambios en el régimen bimodal que presenta la zona central del país (10).

Estos cambios en el régimen de lluvia han generado una necesidad por la aplicación de nuevas tecnologías para el suministro del agua en los cultivos de maracuyá, los cuales todavía no han sido ampliamente empleados por los fruticultores Colombianos (3), causando como consecuencia bajas en la producción debido a retrasos en la floración, formación y maduración del fruto.

Debido a que la propagación se realiza por medio de semillas, la necesidad de una maduración adecuada del fruto es indispensable, ya que incide directamente en la maduración de las semillas, que si no tienen una madurez fisiológica completa causará que las mismas no germinen o muestren características de dormancia fisiológica o morfológica (11). Estas características de dormancia en el caso de *Passiflora edulis* no sólo se presentan por una maduración incompleta de las semillas sino también por otros aspectos genéticos, fitosanitario, anatómicos y fisiológicos

Anatómicamente la semilla de *Passiflora edulis* tiene una testa muy rígida y poco permeable que dificulta el ingreso de agua y la protrusión de la radícula. Fisiológicamente se presentan problemas en la

inadecuada reactivación del metabolismo manifestando una baja calidad, una baja germinación de las semillas y un crecimiento nulo o poco vigoroso de las plántulas (11).

A causa de las características de calidad anatómicas y fisiológicas de las semillas de *Passiflora edulis* mencionadas, se han aplicado diversos métodos para promover la maduración y germinación de éstas, comenzando con la selección de un material de siembra adecuado, evaluando variaciones en factores como, disponibilidad de agua, luz, pH y sustratos, ensayando pre-tratamientos y pre-acondicionamientos, todo con el fin de inducir la germinación y crecimiento de las plántulas (6).

Por consiguiente, el presente trabajo evaluó la calidad de semillas y plántulas de *Passiflora edulis* luego de haber usado tratamientos pre-germinativos de “*Priming*” (hidratación-deshidratación), que tienen como objetivo homogenizar e incrementar la germinación. La obtención de los resultados de este trabajo pueden contribuir a la descripción de protocolos acerca de la evaluación de calidad de semillas de Pasifloras y así mismo mejorar la calidad de los cultivos de maracuyá en Colombia y reducir gastos económicos en el mantenimiento de los cultivos.

### 3. MARCO TEÓRICO

#### 3.1.1 Descripción taxonómica y morfológica de *Passiflora edulis*

El maracuyá es una especie perteneciente al género *Passiflora* ubicado en la familia passifloraceae. A este género pertenecen aproximadamente 480 especies de herbáceas y de hábito trepador leñoso en todo Sur América, mientras que en Asia, África y Oceanía se encuentran en menor proporción con una aproximación de 22 especies (1).

*Passiflora edulis* es una planta de hábito de crecimiento trepador perenne, durante su ciclo de vida esta puede llegar a crecer hasta alcanzar nueve metros de longitud y su período de vida no supera los diez años. Las raíces de esta planta son superficiales y su sistema radical es totalmente ramificado (3). Su tallo es leñoso en la base y a medida que se acerca al ápice va perdiendo esta característica. Presenta hojas alternas de gran tamaño, perennes, lisas y trilobuladas, de color verde oscuro. Las flores, son hermafroditas con un androginóforo bien formado, están sostenidas por 3 brácteas parecidas a las hojas, con 3 grandes sépalos blancos seguidos por 5 pétalos blancos y una corona formada por filamentos que irradian externamente (13). Sobre el androginóforo se encuentra el androceo, formado por 5 estambres con anteras grandes las cuales almacenan los granos de polen. El gineceo está conformado por un ovario tricarpelar, unilocular y multiovulado, con estigma tripartido sostenido por un estilo (13).

El fruto del maracuyá es una baya oval de entre 4 a 10 cm de diámetro, la base y el ápice son redondeados, está recubierta de una cáscara gruesa y cerosa de color amarillo. El pericarpio contiene entre

200 y 400 semillas rodeadas de un arilo mucilaginoso. Estas semillas se encuentran pegadas a las paredes del pericarpio, el color es negro o violeta oscuro (3).

La testa de las semillas presenta un alto grado de lignificación, lo que dificulta la entrada de agua a las mismas y el crecimiento del embrión. La epidermis externa del tegmen seminal está compuesta por células en empalizada que son lignificadas y la endotesta presenta células gruesas (14).

### 3.1.2 Distribución de cultivos de *Passiflora edulis*

Las plantas de maracuyá crecen a una altura entre 0-1300 m.s.n.m, la temperatura media se encuentra entre 24-28 °C, y necesita más de 8 horas de luz por día para la producción de flores. La precipitación pluvial anual adecuada para estas plantas se encuentra entre los 1000 y 1500 mm al año y en cuanto a los suelos se requieren suelos ricos en materia orgánica, fértiles profundas y con drenaje suficiente que impida el anegamiento (15). Según este registro los departamentos en Colombia con mejores cualidades para la siembra de este cultivo son el Valle de Cauca, Huila y Meta aunque no sean los únicos departamentos en los que se cultiva esta planta (4).

### 3.1.3 Comportamiento de la producción durante el año

La cosecha de maracuyá se presenta dos veces durante el año, en diciembre-enero y junio- julio. La primera cosecha se realiza a los 7 u 8 meses, mientras que de la segunda cosecha en adelante se presenta cada 6 meses. Durante el resto del año la producción se reduce aunque sigue continua. Las cosechas en este caso coinciden con las épocas de sequía y las épocas de lluvia son las que inducen a floración. De esta manera independientemente del tipo de semilla las condiciones climáticas también influyen en el rendimiento del cultivo (16).

Según esto actualmente los cambios en los periodos de lluvias conllevan a que se genere una estacionalidad en la producción de las plantas cada vez más marcada, incidiendo en retrasos en la floración y fructificación lo cual conlleva a generar mayores costos en la producción y posibles pérdidas de la misma.

### 3.1.4 Propagación

El maracuyá tiene dos formas de propagación, sexual y asexual, en el caso de la propagación sexual esta se hace por medio de semillas y en el caso de la propagación asexual se realiza por medio de esquejes e injertos. La propagación por esquejes y por injertos son técnicas no muy adoptadas por los cultivadores de maracuyá en Colombia debido a que incrementa los costos de producción y la propagación por esquejes incrementa la incompatibilidad de las semillas debido a que son auto-estériles (16).

Actualmente en Colombia el maracuyá se propaga comercialmente por semillas, lo cual asegura la variabilidad genética proporcionada por la polinización cruzada, además ayuda a superar el problema de la auto-esterilidad e incompatibilidad. Este método de propagación proporciona mayores posibilidades para generar resistencia a patógenos y enfermedades pero también proporciona diferencias en cuanto a la calidad y germinación de las semillas y el crecimiento de las plántulas (16).

### 3.2 Germinación de las semillas

#### 3.2.1 Características generales de la germinación de semillas

La germinación en términos generales constituye los eventos que inician con la toma de agua por parte de la semilla y termina con la elongación de la radícula. Durante estas etapas ocurren varios eventos como hidratación de proteínas, cambios estructurales, cambios celulares, respiración, síntesis de macromoléculas y elongación celular (17).

Durante el proceso de germinación se presentan las siguientes fases:

La primera fase hace referencia a la imbibición, proceso esencial para el ingreso de agua a las semillas. El agua es absorbida a través de las aberturas naturales de la cubierta y difundida hacia el tejido interno. Es el primer paso para el inicio del crecimiento del embrión y es un proceso que rompe períodos de dormancia y quiescencia (11).

En la segunda fase, el potencial hídrico de la semilla se equilibra con el del medio. Después de un tiempo el ingreso de agua se hace más lento hasta que se vuelve nulo. Durante este momento se mantienen activos los sistemas enzimáticos y los procesos metabólicos como la respiración y la síntesis de proteínas (11).

Durante la tercera fase ocurre la elongación de la radícula, turgencia celular y debilitamiento de tejidos externos (11).

#### 3.2.2 Factores que influyen en la germinación de las semillas.

La germinación es afectada tanto por factores internos como externos:

En el caso de los factores internos se conoce que la viabilidad del embrión es uno de los factores indispensables para la germinación, ya que si el embrión no es viable es claro que la semilla nunca germinará. Este factor indica si una semilla está metabólicamente activa o no. La viabilidad se determina mediante la prueba topográfica por Tetrazolio (sal cloruro de 2,3,5-trifenil tetrazolio); que utiliza la actividad de las enzimas deshidrogenasas como un índice de la tasa respiratoria y la viabilidad de las semillas (14).

Otro factor que define la calidad fisiológica e incide en la germinación de las semillas, es el contenido de humedad, a medida que las semillas estén más maduras el contenido de humedad será inferior, la semillas tendrán un máximo de peso seco y su potencial osmótico será muy negativo, garantizando el ingreso de agua por osmosis para la reactivación del metabolismo (18).

El último factor a mencionar es el vigor de la semilla, este parámetro se define como la sumatoria total de propiedades que determinan el nivel de actividad y capacidad de germinación. Es un factor clave para establecer las semillas en un ambiente determinado, dependiendo del alto o bajo vigor germinativo. Para la medición de este factor se emplea un conductímetro, el cual permite estimar la cantidad de osmolitos que se encuentran en el medio causados por la lixiviación de las membranas de la semilla, por lo tanto los valores altos de conductividad eléctrica señalarán semillas de baja calidad (6).

En el caso de los factores externos, la humedad del medio es uno de los factores indispensables para la germinación, si la humedad no es la apropiada para la especie, la semilla no germina ya que no se inicia el proceso de reactivación del metabolismo. Otro factor importante es la temperatura a la que se somete la semilla, ya que esta interviene en la actividad enzimática y metabólica de las semillas.

Otro factor externo importante es el nivel de oxígeno que se encuentra en el medio, ya que durante el momento de la germinación la tasa respiratoria de la semilla se incrementa junto con la reactivación del metabolismo mientras que durante el proceso de maduración y deshidratación de la semillas se reduce la captación de oxígeno, evitando los radicales libres y daños a la membrana. Otro factor importante es la incidencia de la luz y la calidad de la misma, ya que algunas semillas germinan dependiendo de la intensidad y longitud de onda percibida (11).

### 3.2.3 Dormancia

En ocasiones los factores que intervienen en la germinación no son los adecuados para la reactivación del metabolismo de las semillas causando el estado de dormancia, un estado en el cual el desarrollo de la semilla se encuentra detenido por factores estructurales y fisiológicos. Esta fase se reconoce por fallas temporales en la capacidad germinativa de semillas sembradas en condiciones adecuadas (en cuanto a luz, temperatura, agua, oxígeno y humedad) para su germinación.

Se ha descrito que hay diferentes tipos de dormancia causadas por factores exógenos y endógenos (14). La dormancia exógena, es causada por factores externos al embrión como la latencia mecánica (restricción del crecimiento de la radícula), latencia física (testa impermeable) y latencia química (inhibidores en la cubierta seminal) y la dormancia endógena es causada por factores morfológicos (embrión sin desarrollar

o estado de madurez incompleto) y fisiológicos (factores internos del embrión). La latencia doble es una combinación de las diferentes clases de latencias (19).

#### 3.2.4 Características fisiológicas que afectan la germinación y dormancia en Passifloras

En pasifloras gran parte de los inconvenientes para la germinación, se relacionan con características fisiológicas, como incompleta madurez de la semilla, testas rígidas que impiden la protrusión de la radícula y características recalcitrantes que con el tiempo se reflejan en pérdida de la capacidad germinativa (18).

Las semillas son muy susceptibles a entrar en periodos de dormancia. La rigidez y permeabilidad de la testa impide la entrada de agua y la acumulación incompleta de osmolitos dentro de la semilla, lo que dificulta la imbibición y posterior reactivación del metabolismo (11). Debido a esto, se generan algunos tipos de dormancia que no son convenientes en el ámbito de la producción, ya que se reduce el porcentaje de germinación. Por lo tanto, se han desarrollado nuevas investigaciones relacionadas con métodos útiles para romper la dormancia y promover la germinación de las semillas, empezando por la selección de un buen material de siembra, hasta la aplicación de tratamientos y acondicionamientos que puedan resolver problemas de dormancia y poco vigor germinativo.

#### 3.3 Tratamientos pre-germinativos

Debido a que las semillas de Maracuyá presentan dormancia exógena, por las características de rigidez de su testa, se han buscado diferentes tratamientos con el fin de romperla. Uno de ellos es la escarificación, la cual puede ser química o mecánica. En el caso de la química, los ácidos más usados para debilitar la capa externa de la semilla han sido el ácido clorhídrico y el ácido sulfúrico, respondiendo muy bien a diferentes especies forestales pero en pasifloras mostró baja eficacia reflejado en el bajo porcentaje de germinación durante la imbibición (20). A diferencia de esta técnica, la escarificación mecánica con lija de agua, la cual consiste en la remoción parcial de la cubierta seminal, aumenta el porcentaje de germinación de semillas de pasifloras obteniendo altos porcentajes de germinación en semillas de maracuyá (19, 20, 21).

#### 3.4 Acondicionamientos Fisiológicos

Estas técnicas en su mayoría son tratamientos y acondicionamientos empleados antes de la germinación, con el fin de reactivar el metabolismo y reducir el número de semillas dormantes. En el caso de las Pasifloras, muchas de estas prácticas han incluido la imbibición de semillas en agua durante un tiempo a altas temperaturas (mayores a 25°C), tratamiento que no funciona en semillas de maracuyá, debido a que afecta negativamente su viabilidad y modifica su morfología (19). Otros métodos más recientes son las

técnicas de “*Priming*”, dentro de los cuales se emplea el *Osmopriming*, en el cual se utilizan sales y polímeros de alto peso molecular para inducir la hidratación parcial de las semillas y el *Hydropriming*, el cual se suministra agua durante un tiempo determinado logrando su acondicionamiento pero no la germinación. (18).

#### 3.4.1 Hidropiming

El “*Hydropriming*” es un acondicionamiento fisiológico aplicado a las semillas antes de su germinación con el objetivo de mejorar su calidad y maduración. Consiste en aplicar cierta cantidad de agua a las semillas junto con aireación causando una imbibición controlada y reactivación del metabolismo. Se ha demostrado que las semillas expuestas a este tratamiento aumentan su vigor y mejoran la sincronización y la aceleración de germinación (23,24,25).

#### 3.4.2 Osmopriming

El “*Osmopriming*” es un acondicionamiento fisiológico que consiste en someter las semillas en soluciones salina (NaCl, KNO<sub>3</sub>, K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, MgSO<sub>4</sub>) o polímeros de alto peso molecular. Esto ocasionará que se active el metabolismo de las semillas de forma controlada, de tal manera que continúe la maduración de las semillas sin promover la germinación, lo que permite homogenizar el estado de maduración del lote de semillas expuestas. En este caso el equilibrio del potencial osmótico mantiene a las semillas en un estado germinativo avanzado y como resultado, las semillas con maduración incompleta alcanzarán a las semillas completamente maduras. Por ende cuando estas son sembradas, las semillas germinan con mayor rapidez y uniformidad que las no tratadas (22).

Las soluciones osmóticas pueden dividirse en dos grandes grupos: Las soluciones compuestas por polímeros de alto peso molecular y las soluciones salinas. Los polímeros como el Polietilenglicol (PEG) con peso molecular entre 2000-8000, han sido recomendados para acondicionar semillas, debido a que no penetran las membranas celulares, mantiene casi constante la osmolaridad de la solución y presentan una aireación aceptable del medio. Las soluciones salinas promueven la germinación por sus propiedades osmóticas y también promueve una aireación aceptable del medio (23).

Recientemente se han probado estos acondicionamientos en semillas de diferentes especies cultivadas como el arroz, sorgo y el tomate, en donde se han visto registros de mejor calidad fisiológica de las semillas y mejor crecimiento en las plantas, el aspecto que presenta mejores resultados es el incremento en la capacidad germinativa de las semillas (26). Este tratamiento es realmente útil para mejorar la germinación en cuanto a velocidad y vigor germinativo y debido a que las semillas de maracuyá tienden a



entrar en periodos de dormancia fisiológica y morfológica se busca un tratamiento que rompa la dormancia y mejore los aspectos de germinación (18).

### 3.5 Certificación de material de siembra en Colombia

En Colombia el ICA (Instituto Colombiano Agropecuario) avala la producción de semillas certificadas y seleccionadas, además de encargarse de la supervisión de investigación de semillas producidas por métodos convencionales (tratamiento físico, químico y fisiológico) y no convencionales (modificaciones genéticas), de igual forma se encarga de proteger la calidad genética, fisiológica, física y fitosanitaria de las semillas que son producidas en el país (27).

En el año 2010 se expidió la resolución 970 “por medio de la cual se establecen los requisitos para la producción, acondicionamiento, importación, exportación, almacenamiento, comercialización y uso de semillas en el país”. Para el sistema de certificación de semillas de origen sexual se definen las siguientes categorías; básica, registrada y certificada. En Colombia, para efectos de la certificación, se admiten semillas clasificadas en cualquiera de las tres categorías aunque actualmente la gran parte del material empleado se encuentra no registrada y en algunos casos en la categoría básica, puesto que no se ha logrado distribuir eficientemente a los agricultores las semillas ya registradas, dando como resultados semillas de diferentes calidades (27).

## 4. OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de acondicionamientos fisiológicos sobre la calidad de semillas y plántulas de *Passiflora edulis*, de tres procedencias.

### 4.2 Objetivos específicos

- Evaluar la respuesta germinativa de semillas de *P.edulis* por efectos de acondicionamientos fisiológicos
- Evaluar aspectos de calidad de las plántulas por efecto de acondicionamientos fisiológicos

## 5. MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1 Localización

La colecta del material se realizó en 3 cultivos de maracuyá en el municipio de La Plata, ubicados en el departamento del Huila, a una distancia de 122Km de Neiva. Este departamento limita por el norte con los departamentos de Cauca, por el sur con el municipio la Argentina, por el occidente con el departamento del Cauca y por el oriente con el municipio de Paicol. La altitud varió entre 1050m.s.n.m y 1200m.s.n.m, la temperatura promedio se encontraba entre los 21 °C, y la humedad relativa era de 73% aproximadamente.

La colecta se realizó en el mes de julio del 2011 durante una cosecha de “mitaca” (cosecha intermedia), se realizó la colecta de frutos maduros, para posteriormente ser procesados en los laboratorios de Biotecnología Vegetal, perteneciente al departamento de Biología de la Pontificia Universidad Javeriana de Bogotá.

El trabajo experimental se realizó en el laboratorio de Fisiología Vegetal, de la Unidad de Biotecnología Vegetal del departamento de Biología de la Pontificia Universidad Javeriana. El mantenimiento de todos los ensayos de germinación se realizó bajo condiciones controladas de temperatura (25 °C), con un fotoperiodo de 12 horas luz y 12 horas oscuridad.

### 5.2 Población de estudio y muestreo

#### 5.2.1 Procedencia de los frutos

Los frutos de *Passiflora edulis* tomados para este trabajo fueron extraídas de tres cultivos distintos. La primera procedencia pertenece a la finca El Lote (a1), la segunda pertenece a la finca Los Frutales (a2), y la tercera procedencia pertenece a la finca San Carlos (a3) indicadas en el anexo 4 (figura 11). El grado de madurez del fruto fue establecido a partir de características morfológicas tales como tamaño, forma y color.

#### 5.2.2 Semillas de frutos de *Passiflora edulis*

Los frutos fueron colectados y transportados al laboratorio de Fisiología Vegetal para el registro de datos morfométricos y determinación de grados Brix (°Bx) (18). Posteriormente se tomaron datos de peso y cantidad de semillas por fruto. Adicional a esto se realizaron pruebas de viabilidad, vigor, imbibición y se aplicaron acondicionamientos fisiológicos (*Hidropriming* y *Osmopriming*) a semillas con escarificación mecánica (21).

Los factores y los niveles del diseño experimental están sintetizados en la tabla 1, donde el factor procedencia fue codificado como (a) y los tres niveles como 1, 2 y 3 (El Lote, Los Frutales y San Carlos). El factor acondicionamiento fisiológico fue codificado como (b) y sus niveles como 1, 2, 3, 4, 5, 6 (*Hydropriming*, *Osmoprimer*: NaCl -1 MPa, NaCl-3 MPa, Polietilenglicol 8000, el control y control absoluto, respectivamente)

Tabla 1. Factores y niveles del factor evaluados para semillas de frutos de *Passiflora edulis*

<b>Factores de diseño</b>	<b>Niveles del factor</b>	<b>Codificación</b>
<b>Procedencia</b>	El Lote	a1
	Los Frutales	a2
	San Carlos	a3
<b>Acondicionamientos Fisiológicos</b>	<i>Hydropriming</i>	b1
	<i>Osmoprimer</i>	
	NaCl (-1 MPa)	b2
	NaCl (-3 MPa)	b3
	Polietilenglicol 8000 (-1MPa)	b4
	Control (semillas escarificadas)	b5
	Control absoluto (semillas sin escarificar)	b6

### 5.3 Diseño Experimental

Los tratamientos se aplicaron bajo la estructura de un diseño completamente al azar con arreglo factorial 3x6. La variable de respuesta fue el número de semillas germinadas y los parámetros del crecimiento de las plántulas; la unidad de respuesta fue definida como cada semilla y cada plántula y como unidad de muestro cada repetición. Para cada tratamiento se utilizaron 25 semillas con 4 repeticiones.

### 5.4 Tratamientos

Los tratamientos son todas las combinaciones de los factores y los niveles de los factores evaluados en este estudio. En la tabla 2 se presentan todas estas posibles combinaciones de los factores a evaluar, procedencia (a) y acondicionamientos fisiológicos (b).

Tabla2. Tratamientos y combinaciones de los factores con los niveles del factor de las semillas de *P. edulis*

Procedencia	Acondicionamientos Fisiológicos			
	<i>Hydropriming</i>	<i>Osmoprining</i>		
		-1 MPa	-3MPa	PEG
a1	a1b1	a1b2	a1b3	a1b4
a2	a2b1	a2b2	a2b3	a2b4
a3	a3b1	a3b2	a3b3	a3b4

## 5.5 MÉTODOS

### 5.5.1 Recolección y caracterización del fruto de *P. edulis*

La recolección de frutos fue realizada en tres cultivos diferentes localizados en el municipio de La Plata departamento del Huila. Se escogieron frutos ovalados con el color de la cubierta parcialmente amarilla y completamente amarilla, se colectaron frutos sanos y sin daños mecánicos. Los frutos escogidos, fueron llevados al laboratorio para su caracterización, se tomaron registros de parámetros de longitud, peso, número de semillas por fruto y °Brix para cada uno de ellos como indicador de grado de madurez (14).

### 5.5.2 Extracción de las semillas

Se extrajo manualmente las semillas de los frutos de cada procedencia. Las semillas fueron colocadas en un colador para extraer parte del arilo, posteriormente, fueron extendidas sobre papel periódico durante 2 días para secar el arilo que no fue extraído, después de las 48 horas, se retiraron los restos de arilo frotando suavemente cada semilla con las manos. Se tomaron datos del número de semillas por fruto y su peso fresco con una balanza digital ACCULAB (5).

### 5.5.3 Prueba de viabilidad

Para la realización de la prueba de viabilidad, se tomaron 4 repeticiones de 25 semillas por procedencia. Las semillas se sometieron a escarificación mecánica con una lija de agua (320 grados), en el sitio del micrópilo. Estas semillas fueron imbibidas en agua desionizada durante 24 horas para facilitar su corte, al cabo de este tiempo las semillas fueron sumergidas en la solución de tetrazolio (cloruro de 2,3,5-trifenil tetrazolio) al 1% y fueron colocadas en un fitotron a una temperatura de 25°C durante 4 días aproximadamente. Para detener la reacción después del cuarto día, se extrajo el tetrazolio donde las semillas estaban inmersas, se lavaron las semillas con agua desionizada y se sometieron a refrigeración hasta el momento de la evaluación bajo el estereoscopio. Las semillas fueron cortadas y observadas con un estereoscopio, se describieron los patrones de coloración de las estructuras del embrión con el fin de estimar el porcentaje de viabilidad de las semillas encontradas en las tres procedencias (6,18).

#### 5.5.4 Análisis del contenido de humedad

Para la determinación del contenido de humedad de las semillas, se tomaron al azar 4 repeticiones de 25 semillas por procedencia. Se registró el contenido de humedad con el equipo digital O-Haus (MB45), el cual al final de la prueba (20 min a 100°C) mostró valores correspondientes al peso inicial-final, porcentaje de sólidos y porcentaje de humedad de las semillas.

#### 5.5.5 Curva de imbibición

La curva de imbibición fue realizada durante 10 horas continuas, se tomaron 4 repeticiones de 25 semillas escarificadas con lija de agua y 4 repeticiones de semillas no escarificadas. A cada repetición se le tomó el peso inicial en gramos, y posteriormente cada grupo fue colocado a imbibir sobre papel de germinación en una bandeja de germinación con una cantidad de 250ml de agua desionizada. Durante el periodo de 10 horas se hizo un registro del peso fresco de cada repetición durante espacios de 1 hora, hasta que el peso se estabilizó (14).

#### 5.5.6 Prueba de vigor

Se tomaron 4 repeticiones de 25 semillas por procedencia, las cuales fueron colocadas en frascos de vidrio, cubiertas con papel aluminio con 250ml de agua desionizada durante un período de 24 horas a 25°C. Posterior a esto, se retiró el agua de cada una de las repeticiones, se midió la conductividad eléctrica del agua por medio de un conductímetro con el objetivo de estimar el vigor de las semillas. La medida fue registrada a partir de la fórmula mencionada por la ISTA;

$$\frac{\text{Conductividad de las semillas } (\mu\text{Scm}^{-1}) - \text{la conductividad del agua}}{\text{Peso (g) de la repetición}} = \text{Conductividad } (\mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1})$$

De esta manera las semillas con una alta conductividad presentan un menor vigor debido a que refleja un mayor deterioro en las membranas (6).

#### 5.5.7 Pruebas de germinación

Las semillas que fueron tratadas con los acondicionamientos fisiológicos, fueron escarificadas mecánicamente con una lija de agua (320°) en el sitio de emergencia del micrópilo (21). Se colocó un control escarificado y un control absoluto cuyas semillas no habían sido escarificadas ni acondicionadas, para demostrar la dormancia mecánica presente en las semillas.

##### 5.5.7.1 Acondicionamientos Fisiológicos

###### 5.5.7.1.1 Osmopriming

Se prepararon dos soluciones salinas con NaCl analítico a potenciales osmóticos de -1 y -3 MPa y otra solución de un polímero de alto peso molecular (PEG 8000) a -1 MPa. Cada una de las soluciones (NaCl a -1 y -3 MPa y PEG -1MPa) fueron agregadas en tubos Falcon de 50ml con una cantidad de 25 ml por frasco. A cada tubo Falcon se le agregaron 25 semillas escarificadas y se hicieron 4 repeticiones por tratamiento de cada procedencia. Seguido de esto los frascos fueron colocados en un agitador a una temperatura de 25 °C durante 48 horas (26):

Para preparar las soluciones de NaCl a potenciales de -3 y -1 MPa se utilizó la fórmula:

$$\Psi_w = \Psi_s + \Psi_p$$

$$\Psi_s = -C_i \cdot R \cdot T$$

Para la solución de polietilenglicol a -1MPa se usó la fórmula usada por Michel (1983):

$$[\text{PEG}] = (4 - (5.16\Psi_w T - 560\Psi_w + 16)^{0.5}) / (2.58T - 280)$$

#### 5.5.7.1.2 Hydropriming

Se tomaron 4 repeticiones de 25 semillas de cada procedencia, cada una de ellas fue escarificada con lija de agua (320 grados) a un lado del lugar de emergencia del micrópilo Y fueron introducidas en tubos Falcon de 50ml, con 25ml de agua desionizada-esteril. Posteriormente los tubos fueron colocados horizontalmente sobre un agitador a una temperatura a 25°C, durante 48 horas (25).

#### 5.5.7.3 Secado de semillas

Después de someter las semillas a cada tratamiento, fueron colocados en desecadores de vidrio con silica gel, donde las semillas fueron separadas por tratamientos y por procedencias. Se evaluó el contenido de humedad de las semillas durante un periodo de 5 días, hasta que el contenido de humedad de las semillas volvió al inicial, antes de haber sido sometidas al tratamiento (24).

#### 5.5.7.4 Siembra en bandejas de germinación

Las semillas se colocaron en cajas de plástico sobre papel de germinación. Para cada tratamiento se tomaron 4 repeticiones de 25 semillas, y se colocaron en pliegues de papel de germinación entre las cajas de plástico. Las semillas fueron colocadas en un cuarto con temperatura de 25°C, humedad relativa del 60% y un fotoperiodo de 12 horas luz, 12 oscuridad (5).

#### 5.5.8 Análisis de la información

En las normas internacionales de evaluación de semillas (6), se define la protrusión de la radícula como criterio de germinación seminal. En este estudio, la germinación comenzó a partir del 6 día y se prolongó

durante 30 días más aproximadamente. Se registró el número de semillas germinadas por repetición durante todos los días desde el sexto al trigésimo día.

#### 5.5.9 Análisis de germinación

La variable dependiente para el análisis de datos fue el número de semillas que fueron germinadas (NG) durante un período de 30 días, a partir del número de semillas germinado se calcularon los siguientes índices de germinación:

- GRI (índice de tasa de germinación): expresa la velocidad de germinación de acuerdo con el número total de semillas que germinan en un intervalo de tiempo.

$$GRI = G1 / T1 + G2/T2 + G3/T3 + \dots Gn/Tn$$

Donde G1 equivale al número de semillas germinadas en el tiempo 1 (T1), y así sucesivamente dependiendo del número de conteos que se realicen.

- $R_{50}$ : hace referencia a la velocidad de germinación en términos del número de días requeridos para que germinen el 50% de las semillas sembradas.
- $R_{50}$ : Expresa la velocidad de germinación en términos del día en el cual ha germinado el 50% del total de semillas que germinó al final del período de observación
- GC (capacidad de germinación en %): muestra el porcentaje de semillas que germinan al final de la prueba.
- PV (valor pico): se obtiene a partir de la velocidad de germinación, y expresa la tasa de germinación como el máximo cociente derivado de la división del número de semillas germinadas acumulado diariamente por el correspondiente número de días.
- MDG (germinación media diaria): es el porcentaje acumulado de semillas germinadas al final de la prueba, dividido por el número de días durante la prueba.
- GV (valor de germinación): expresa la energía germinativa y la velocidad de germinación, esta se calcula acorde con esta fórmula.

$$GV = MDG \times PV \quad (28).$$

Donde MDG se refiere a la germinación media diaria y PV al Valor pico

#### 5.5.10 Análisis de calidad de plántulas

Luego de la aparición de la radícula, el material se transfirió a bandejas de germinación con turba, se dejaron crecer las plántulas durante un periodo de 30 días y se midió la altura, longitud de la raíz, el número de hojas, el área foliar y el peso seco de tallo, hojas y raíz, cuyos resultados fueron utilizados para calcular índices de crecimiento:

RAF (Relación del área foliar): medida del balance entre la capacidad fotosintética potencial y el costo respiratorio potencial y expresa la relación entre el área foliar y el peso seco total.

AFE (Área foliar específica): hace referencia al área foliar promedio de una hoja por unidad de peso seco foliar y es una medida de la densidad de hojas o del grosor relativo de una capa de hojas

RFP(Relación de peso foliar): es el peso seco total que corresponde a la fracción hojas y es un índice de frondosidad de la planta. Donde el primero es el peso seco total de las hojas y PS es el peso seco total de la planta;  $RFP = PSAF/PS$ .

RMR (Relación de peso radical): indica la distribución de materia seca hacia la raíz sobre el peso seco total de la planta

(29)

#### 5.5.11. Modelo aleatorio simple

La primera etapa de análisis estadístico consideró un modelo aleatorio simple, que explica las variaciones de respuesta a un solo factor, correspondientes a cada uno de los tratamientos aplicados a las semillas de *Passiflora edulis*. El modelo corresponde a la siguiente formula.

$$Y_{ij} = \mu + F_i + \varepsilon_j$$

Donde  $Y_{ij}$  es la variable de respuesta;  $\mu$  es el efecto del medio general;  $F_i$  es el efecto del tratamiento y  $\varepsilon_j$  es el efecto del factor aleatorio o error experimental.



Este análisis se realizó con el objetivo de mostrar el comportamiento de los índices (CG, GRI, PV, R<sub>50</sub>, R<sub>50</sub>, MDG, GV, RAF, AFE, RPF Y RMR) en cada tratamiento, así como las diferencias generales entre cada uno de ellos. A partir de los resultados obtenidos se realizó prueba de ANOVA para los datos que si cumplían los supuestos y Kruscal-Wallis para los que no los cumplían posterior a eso se realizó una prueba de Duncan para ver las diferencias entre las medias de cada uno de los índices evaluados.

#### 5.5.12. Modelo factorial

Para el segundo análisis estadístico se realizó un análisis más detallado, en el que se evaluó cada uno de los factores; procedencia (a) y tratamiento (b), con el fin de definir qué factores tuvieron una influencia significativa en la respuesta de la germinación y el crecimiento de las plántulas. El modelo factorial corresponde a la siguiente fórmula:

$$Y_{ijk} = \mu + A + B + AB + \varepsilon$$

Donde  $Y_{ijk}$  es la variable de respuesta;  $\mu$  es el efecto del medio general; A corresponde al factor i; B es el efecto del factor ii y AB corresponde a la interacción entre los dos factores.

Toda la información fue procesada con el programa “Statistical Product and Service Solution” SPSS Statistics 17.0.

## 6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1 Recolección y Caracterización del fruto

Los resultados obtenidos para los parámetros morfométricas de los frutos se muestran en el Anexo 1. Los frutos de la finca de San Carlos fueron los frutos mas elongados con el diámetro más pequeño, mientras que los frutos de las fincas El Lote (a1) y Los Frutales (a2) coincidían con su tamaño y forma ovalada. El peso fresco de los frutos indicó que los frutos de la procedencia a1 (El Lote) eran los más pesado, coincidiendo con que fueron los frutos con mayor numero de semillas en su interior.

Los frutos de la finca a3 (San Carlos) tuvieron los valores más altos en cuanto al % de sacarosa en el medio con 9,14% de sacarosa, seguido por los frutos del El Lote y Los Frutales con un promedio de 8,65% y 7,48% respectivamente (Anexo1).

El porcentaje de sacarosa del fruto fue un estimador importante de madurez fisiológica de las semillas, ya que el porcentaje de sacarosa aumenta a medida que se degradan los sólidos solubles durante la maduración del fruto y así mismo la maduración de la semilla, de tal forma que a mayor madurez, mayor cantidad de sacarosa en el medio (18). Los frutos de la procedencia a3 fueron los valores más altos de porcentaje de sacarosa, sirviendo como un indicativo de mayor madurez fisiológica de las semillas con respecto a las otras procedencias.

### 6.2 Prueba de viabilidad

Acorde a los patrones de tinción generados por la prueba topográfica por tetrazolio, los porcentajes de viabilidad de los embriones de las semillas de las tres procedencias fueron menores al 50% (Anexo 2). Las semillas de las procedencias El Lote (a1) y San Carlo (a3) tuvieron el mismo porcentaje de semillas viables con un total de 41%, a diferencia de las semillas de la procedencia a2 cuyo resultado fue ligeramente más alto con un valor del 49% viable (fig.1).

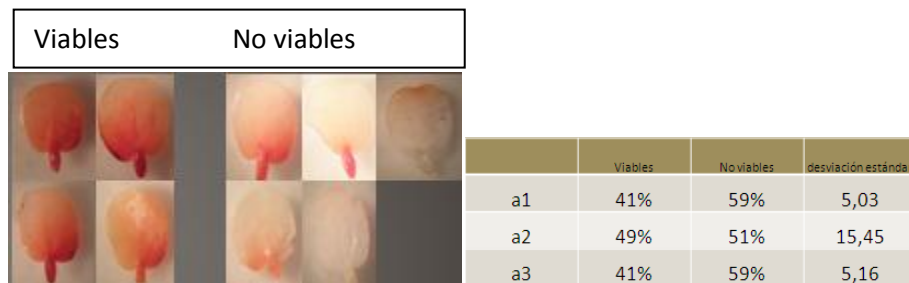


Fig 1. Patrones de coloración de los embriones de *P. edulis* para las 3 procedencias

Debido a que la prueba topográfica de tetrazolio es utilizada para estimar la viabilidad de las semillas, a partir de la reacción química de oxido-reducción que se da por la actividad de las enzimas deshidrogenasas, los iones de hidrógeno y su reacción con la sal de tetrazolio (6). Esta sólo es utilizada para determinar el porcentaje de semillas que posiblemente germinarían en pruebas posteriores. En este caso los resultados de germinación de los diferentes tratamientos no reflejaron una relación directa con la prueba de viabilidad. Debido a que la prueba al ser de carácter topográfica puede llegar a ser subestimada o sobrevalorada dependiendo de la capacidad respiratoria de los tejidos celulares de las semillas las cuales pueden variar por factores como temperatura y capacidad de imbibición de las semillas. Además que la

prueba no puede diferenciar entre las semillas que germinan y las que se encuentran en periodos de dormancia.

### 6.3 Análisis de contenido de humedad

El porcentaje de humedad de las semillas de las tres procedencias fueron valores muy similares entre sí. En este caso la procedencia El Lote (a1) y San Carlos (a3) compartieron el mismo porcentaje de humedad con un total de 5,3% mientras que la procedencia a2 contenía un porcentaje de 5,2% (Anexo 3).

El contenido de humedad sirve como indicador de madurez fisiológica de las semillas, ya que las semillas durante la primera fase de maduración aumentan su peso fresco debido al ingreso del agua y a la asimilación de nutrientes, pero después de que las semillas alcanzan su máximo peso fresco el contenido de humedad tiende a bajar debido a que pasa a una fase donde hay tolerancia a la desecación (17). Por lo tanto cuando hay menor porcentaje de humedad entre la semilla, se indica que su madurez fisiológica es mayor, sin embargo en este caso es posible afirmar que la madurez fisiológica de las semillas de las tres procedencias se encontraron en niveles muy similares.

### 6.4 Curva de imbibición

El tiempo de imbibición para las semillas escarificadas y no escarificadas fue durante un periodo de 10 horas. Durante este periodo se pudo ver que el peso fresco de las semillas de la procedencia a1 tardo en comenzar a estabilizarse durante 4 horas mientras que el peso fresco de las semillas de las procedencias a2 y a3 comenzó su estabilización en un periodo de 3 horas (figura 1,2 y 3). Según estos resultados se pudieron ver que la diferencia entre los tiempos de estabilización del peso fresco de las semillas no fue muy marcada mostrando de esta forma una relación directa con la prueba de contenido de humedad el cual tampoco mostró diferencias. Indicando igualmente una madurez fisiológica similar entre las semillas de las tres procedencias.

Las semillas que fueron escarificadas tuvieron una estabilización en cuanto al peso fresco de las semillas más eficiente que las que no fueron escarificadas, esto posiblemente debido a que al escarificar el sector donde emerge el micrópilo se facilito el ingreso de agua durante un periodo de imbibición. También se puede deducir que la rigidez y permeabilidad de su testa no dificulta el ingreso de agua durante las primeras dos fases del proceso de imbibición (19).

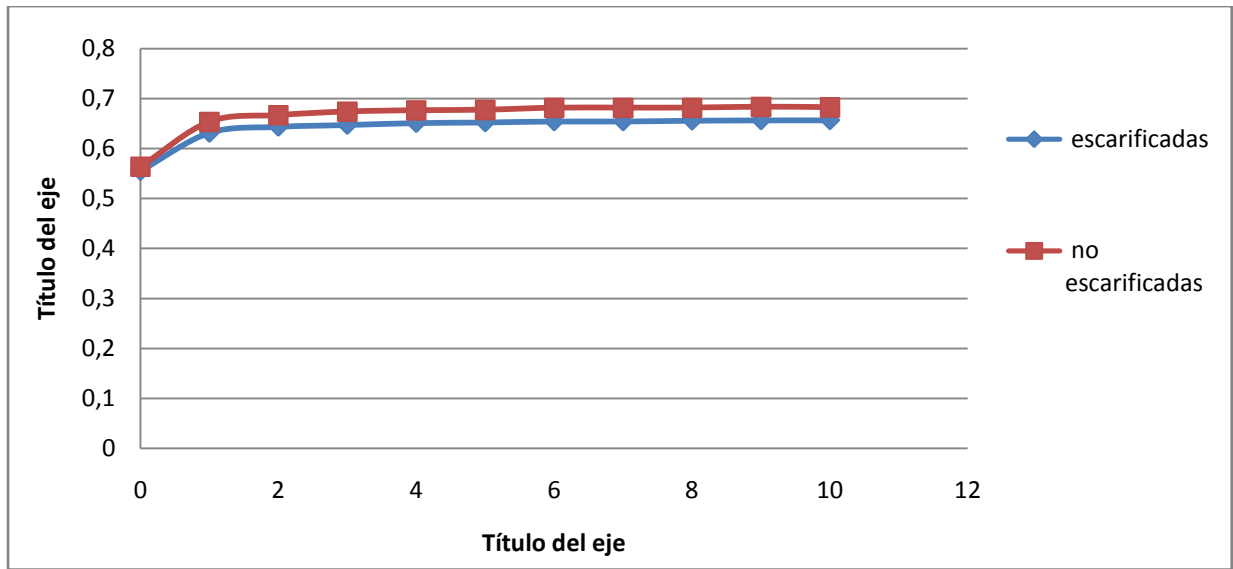


Fig 2. Curva de imbibición de semillas de frutos encontrados en la finca El Lote (a1)

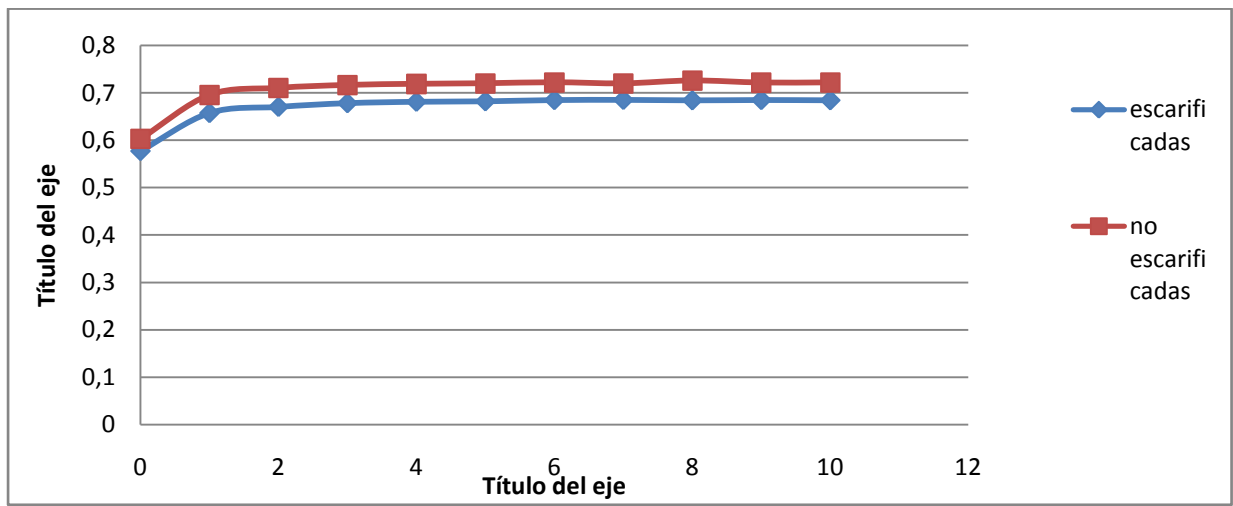


Fig 3. Curva de imbibición de semillas de frutos encontrados en la finca los frutales (a2)

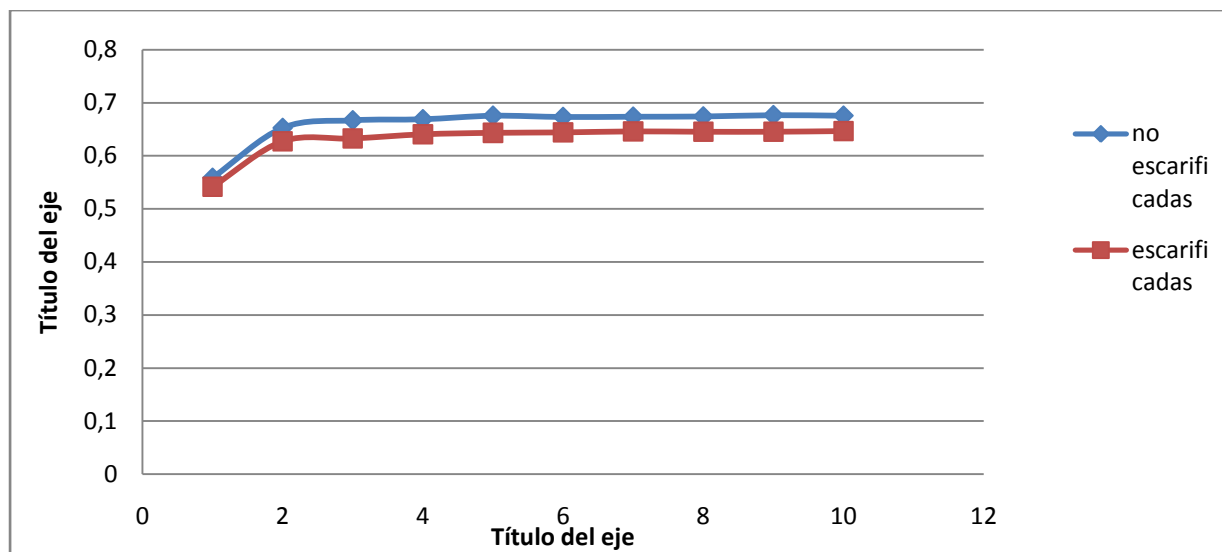


Fig4. Curva de imbibición de semillas de frutos encontrados en la finca San Carlos (a3)

### 6.5 Prueba de vigor

Según la conductividad eléctrica, las semillas de la procedencia a2 (Los Frutales) fueron las semillas con más bajo vigor ( $93,57 \mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1}$ ), seguido por la procedencia a1 ( $83,02 \mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1}$ ) y a3 ( $81,79 \mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1}$ ) respectivamente. (Tabla3) la conductividad eléctrica estima la lixiviación de electrolitos de las membranas internas de las semillas, por lo tanto a mayor número de electrolitos en el medio, mayor deterioro de las membranas internas y por lo tanto menor vigor, refiriéndose a él como la sumatoria de características que intervienen en la actividad y rendimiento de las semillas (6). Por lo tanto los valores más altos de conductividad indicaran mayor deterioro y menor vigor. Según lo mencionado las semillas de la procedencia Los Frutales (a2) fueron las semillas con menor vigor, mientras que las semillas de la procedencia San Carlos (a3) obtuvieron los menores valores indicando un mayor vigor con respecto a las semillas de las otras dos procedencias.

Estos resultados tuvieron relación con el número de semillas germinadas en el control (b5) de la procedencia a2, mostrando que al presentar el menor vigor, también presentó el menor número de semillas germinadas con respecto a las semillas no acondicionadas de las tres procedencias.

Tabla 3. Conductividad eléctrica de las semillas de frutos de maracuyá de las tres procedencias

procedencia	Conductividad ( $\mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1}$ )	Desviación estándar
a1	83,02	4,99
a2	93,57	10,12
a3	81,79	7,987

## 6.6 Pruebas de Germinación

Las semillas fueron previamente escarificadas en el micropilo antes de someterlas a los acondicionamientos fisiológicos, ya que son susceptibles de presentar dormancia mecánica, causada por la rigidez en su testa (19). En los resultados se incluyó un control absoluto por cada procedencia el cual no fue escarificado ni acondicionado cuyos resultados mostraron una germinación menor al 10% para las tres procedencias, demostrando de esta manera que la escarificación mecánica provee un aumento en la capacidad germinativa en semillas de maracuyá.

## 6.7 Modelo aleatorio simple

Según la prueba de normalidad de *Levene*, algunos índices obtenidos de la germinación de las semillas no presentaron una distribución normal ni homogeneidad de varianzas, por lo tanto las variables que no presentaron homogeneidad de varianza fueron analizadas con la prueba de Kruskal wallis. Las variables que cumplían los supuestos para el análisis de varianza fueron analizados con la prueba paramétrica de ANOVA y posterior prueba de *Duncan*, para compara las semejanzas y diferencias entre las medias de los tratamientos (anexo 6,7 y8).

Análisis de la respuesta de germinación:

**Índice de la Capacidad Germinativa GC:** expresa el porcentaje de germinación total de las semillas que fueron colocadas a germinar durante el tiempo de la prueba (24 días). En este caso se pudo determinar que al final de la prueba, las semillas expuestas al acondicionamiento b3 (NaCl a -3MPa) presentaron porcentajes bajos de germinación, posiblemente por los altos niveles de salinidad en el medio y la semilla, lo que causó estrés osmótico al embrión inhibiendo la captación de agua por parte de ellas, dando como resultado inactividad durante la germinación. Las semillas que hicieron parte del control absoluto (b6, semillas sin escarificar) no lograron una germinación mayor al 10% en ninguna de las tres procedencias, probablemente causado por la presencia de dormancia mecánica inducida por la rigidez de su testa (Figura 4)(19).

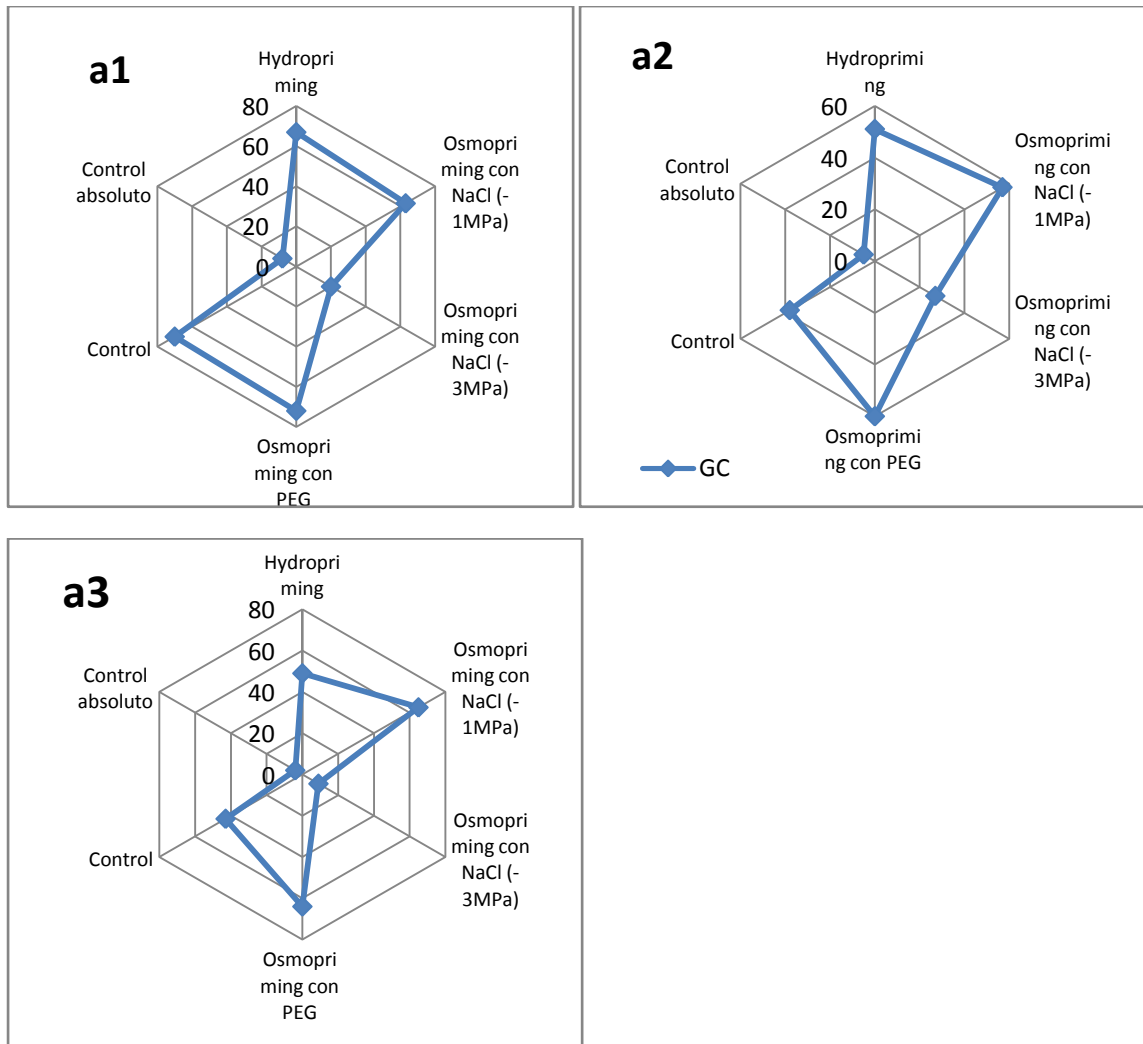


Fig. 5 Respuesta de índice GC por efecto de los tratamientos para las 3 procedencias

Por otro lado se pudo observar que los acondicionamientos de *Osmopriming* (PEG Y NaCl a -1MPa) fueron los tratamientos que causaron mayor efecto en la capacidad germinativa de las semillas mostrando diferencias significativas con relación a los otros tratamientos (anexo 10). Debido que este índice indica la capacidad que tienen las semillas para germinar, se pudo comprobar que estos tratamientos tienen la capacidad de madurar las semillas, acelerar procesos de imbibición e incrementando la germinación con relación a las semillas que no fueron acondicionadas. Según los resultados de la prueba de Duncan, las semillas de la procedencia a1 (El Lote) fueron las que presentaron la mejor capacidad germinativa en todos los tratamientos incluyendo el control con respecto a las semillas de las otras procedencias (anexo 9), asumiendo que este lote de semillas tienen las características indicadas para tener una capacidad germinativa alta, sin necesidad de aplicar acondicionamientos fisiológicos.

**Índice de Tasa de Germinación GRI:** es un índice de velocidad, que estima la germinación durante un intervalo de tiempo determinado, en este caso se pudo observar que los valores más altos los presento las semillas acondicionadas con PEG (b4) y con cloruro de sodio a -1MPa (b2), indicando que en un periodo de tiempo corto con respecto al establecido del experimento, alcanzaron a germinar mas semillas en comparación a los otros acondicionamientos.

Variaciones en el potencial osmótico del medio puede ayudar a la germinación, ya que causa la absorción controlada de agua, proporcionando la capacidad de reactivar el metabolismo, madurar las semillas no maduras, romper periodos de dormancia y acelerar la germinación (22, 23, 25, 26). Las concentraciones de sales o polímeros de alto peso molecular necesarios para incrementar la germinación pueden variar dependiendo de las características de las semillas, en el caso de este experimento se puede inferir que las concentraciones de NaCl a potenciales osmóticos de -3 MPa o mayores causan estrés osmótico mientras que a potenciales de -1MPa en el caso de sales y polímeros estimulan la germinación en *Passiflora edulis* (figura. 5).

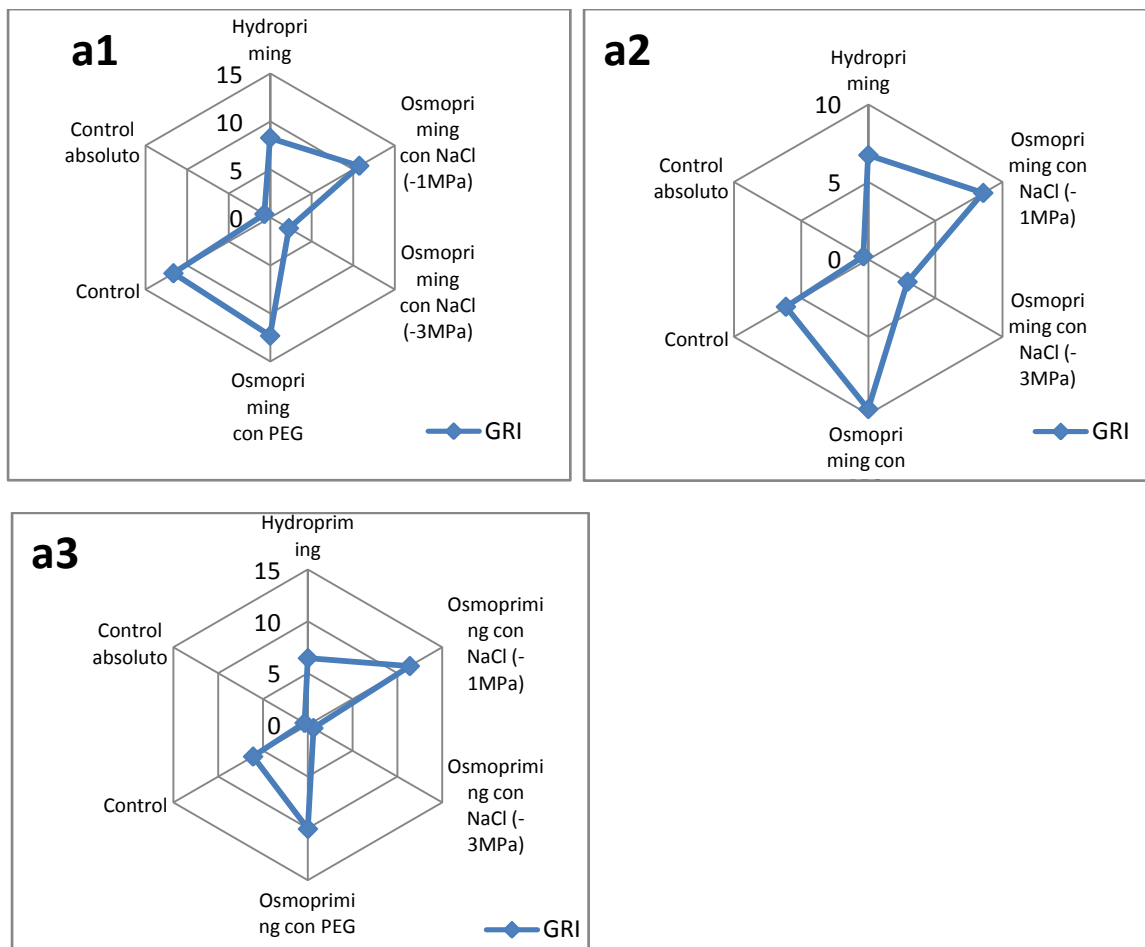
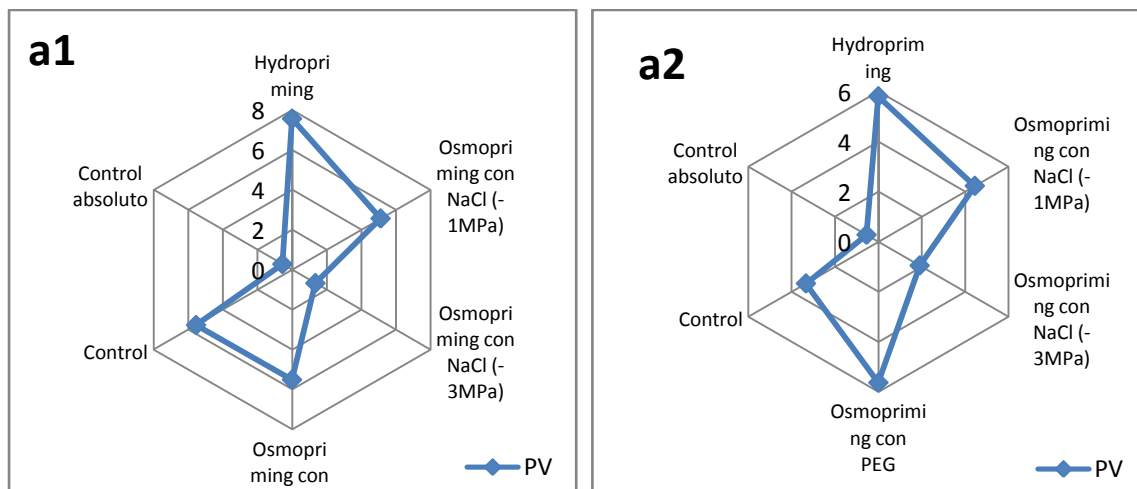


Fig. 6 Respuesta de índice GRI por efecto de los tratamientos para las 3 procedencias



La prueba de Duncan, indicó que el acondicionamiento b4 y b2, (PEG 8000 y NaCl -1MPa) presentaron valores mas altos con relación al acondicionamiento b1 (*Hydropriming*) indicando que el tratamiento con polietilenglicol 8000 tuvo mayor incremento en la germinación durante determinado periodo de tiempo, que el acondicionamiento de *hydropriming*. Indicando que el tratamiento con polimeros de alto peso molecular confieren a las semillas características para aumentar la capacidad germinativa de las mismas. Así mismo, el acondicionamiento b2 (NaCl-1MPa) no presento diferencias significativas con b4 demostrando que no es necesario aplicar polimeros para aumentar la germinación. Lo necesario es preparar un medio con el potencial osmotico no muy negativo evitando la intoxicación y el estrés en el caso de las sales, para conferir mayor germinación (23).

**Valor Pico PV:** expresa la velocidad de germinación, como el máximo valor que se obtiene durante la curva de germinación. Básicamente representa la sincronización durante la germinación. Los resultados de este trabajo mostraron que las semillas expuestas al *Hydropriming* fueron las semillas con la germinación más homogénea para el caso de las tres procedencias seguido por el *Osmoprming* con PEG, ambos sin diferencias significativas. El acondicionamiento b2 (NaCl -1MPa) fue el siguiente tratamiento con valores más altos, presentando diferencias significativas con el *Hydropriming*. Los tratamientos b3, b5 y b6 fueron los tratamientos menos útiles para la sincronización durante la germinación (figura 6).



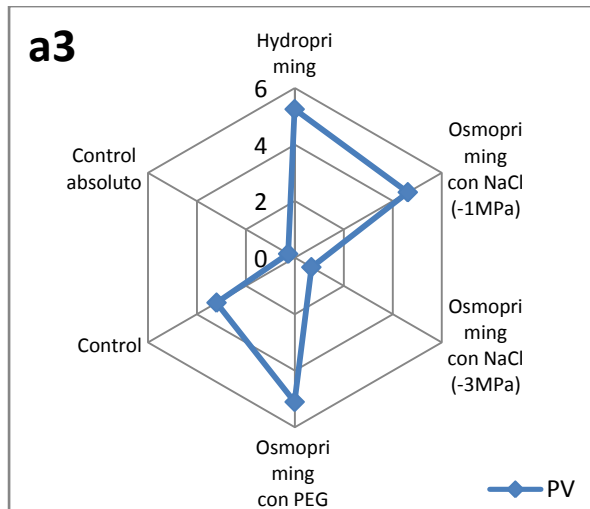


Fig. 7 Respuesta de índice PV por efecto de los tratamientos para las 3 procedencias

Se determino que el *Hydropriming* obtuvo los mejores resultados en cuanto a sincronización germinativa en las tres procedencias (anexo 9) posiblemente debido a que la captación de agua hecha por las semillas no se hace de manera controlada evitando la lenta absorción de agua, por lo tanto la reactivación del metabolismo se da de forma rápida y así mismo su germinación homogénea. El PEG 8000 fue otro tratamiento eficaz para la sincronización durante la germinación, debido a que es un polímero de alto peso molecular que causa potenciales osmóticos negativos en el medio ayudando a las semillas a activar su metabolismo y madurar hasta el máximo punto de maduración antes de la protrusión radicular, evitando los iones + y - que pueden causar intoxicación y estrés a la semilla, dejando a las semillas en su punto máximo de madurez para una germinación homogénea (30,23).

**Índice de la tasa de germinación R50:** índice de velocidad de germinación se interpreta como el número de días necesarios para que germine el 50% de las semillas totales. Los resultados mostraron que el control absoluto (b6) y el acondicionamiento b3 no lograron el 50% de la germinación total para ninguna de las tres procedencias. En el caso del control (b5) de la procedencia a2 se pudo ver que tampoco cumplió con el 50% de la germinación (anexo9), indicando una relación con los resultados de la prueba de vigor, cuyos valores mostraron que eran las semillas más deterioradas y con bajo vigor del las tres procedencias. Las semillas acondicionadas con el *Hydropriming* germinaron en el menor tiempo posible respecto a los demás tratamientos. Las semillas expuestas al polietilenglicol tuvieron un alto porcentaje en cuanto a CG, sin embargo demoraron más tiempo en alcanzar el 50% de la germinación, esto pudo suceder debido a que los acondicionamientos con cambios en el potencial osmótico retrasan el ingreso de agua a las semillas, causando una completa maduración fisiológica y retrasando su protrusión radicular (30).

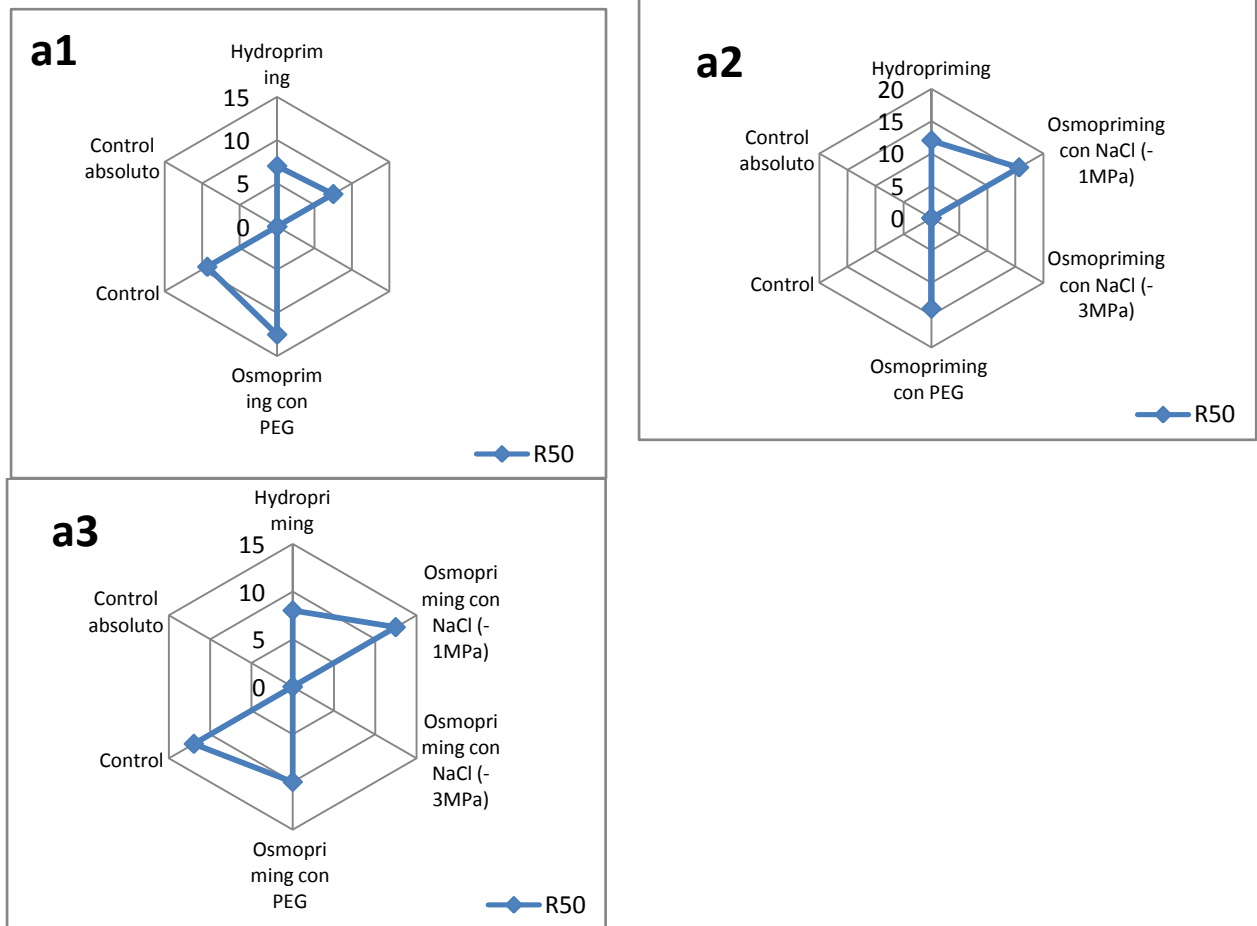


Fig. 8. Respuesta del índice R<sub>50</sub> por efecto de los tratamientos para las 3 procedencias.

**R<sub>50</sub>**: Es un índice de velocidad, que determina en qué día germina el 50% de las semillas, con respecto al total germinado al finalizar la prueba (29). En este caso se puede observar que se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos, sugiriendo que para alcanzar el 50% de las semillas germinadas en el caso del maracuyá, se requiere un periodo entre el séptimo el noveno día para semillas acondicionadas con *Osmopriming* a -1MPa o con *Hydropriming*. A diferencias de las semillas no acondicionadas y acondicionadas con mayores concentraciones de sal cuyos valores eran más altos, demorando entre los 9 y los 13 días en alcanzar el 50% de semillas germinadas. Este valor es importante debido a que es utilizado para determinar cuántas semillas son necesarias sembrar para obtener un número determinado de plántulas.

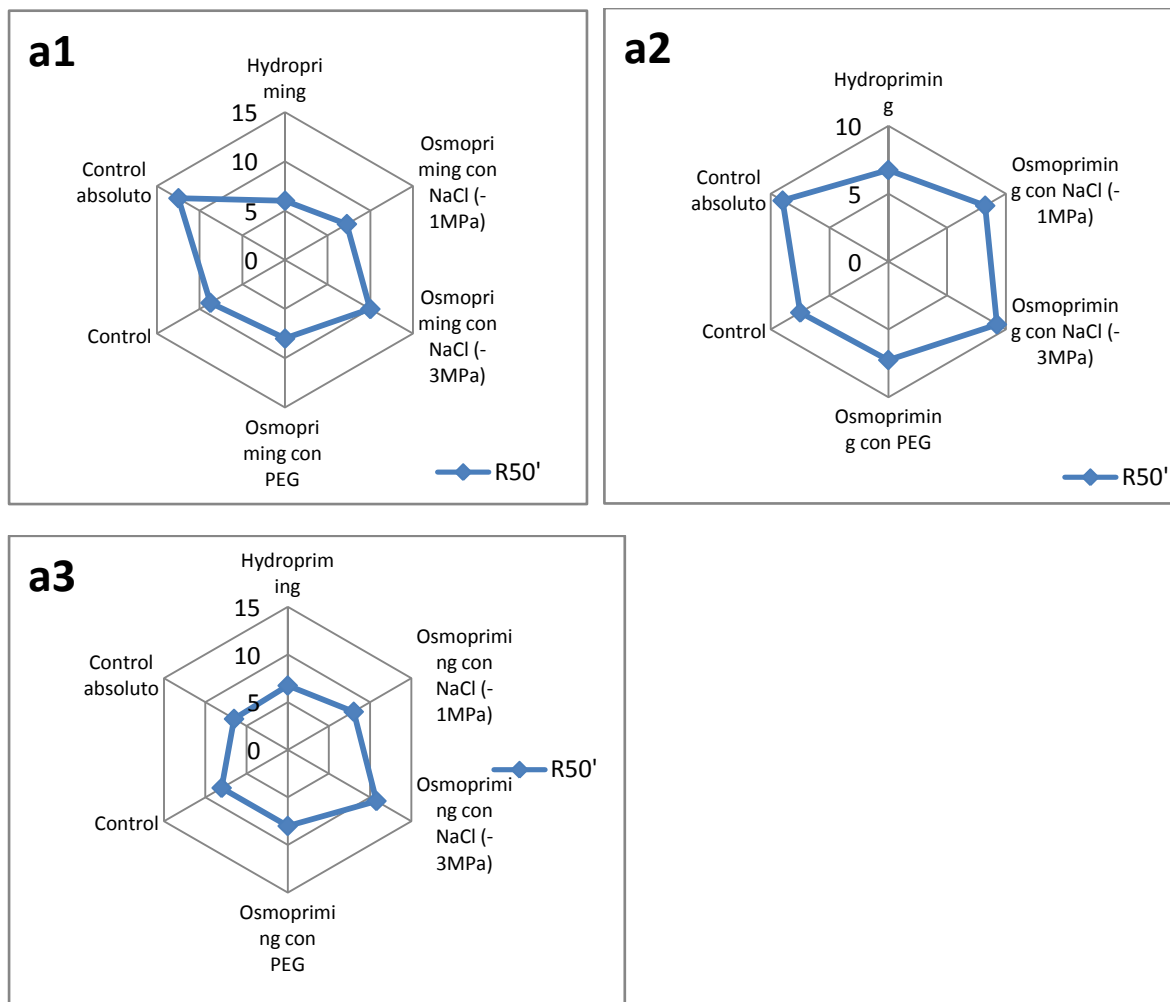


Fig. 9 Incidencia de los tratamientos sobre el índice  $R_{50'}$  para las semillas de las tres procedencias.

Según la prueba de Duncan la semillas expuestas al tratamiento b1 (*Hydropriming*), fueron las que mejor respondieron a la germinación en las tres procedencias (anexo 9)(tablas 12,13,14), indicando que este tratamiento, a pesar de no presentar la capacidad germinativa más alta, si concede mayor velocidad durante la germinación, indicando que la captación de agua no controlada por potenciales osmóticos, reactiva más rápido el metabolismo, acelerando sus procesos de imbibición y germinación. (30, 24, 25)

**GMD (Germinación media diaria):** es un índice de velocidad el cual indica el número de semillas germinadas durante el total de la prueba. Los resultados mostraron similitud con la capacidad germinativa, los tratamientos b1 (*Hydropriming*), b2 (NaCl -1MPa) y b4 (PEG), fueron tratamientos que aumentaron la germinación media diaria con relación al control (b5), en el caso de las semillas de las procedencias a2 y a3 (anexo9). En el caso de las semillas de la procedencia a1, el control (b5) no mostro diferencias en cuanto al número de semillas germinadas con relación a los otros tratamientos, sugiriendo que este lote de semillas no presenta problemas con relación a su capacidad germinativa, indicando mejor calidad

seminal, no obstante es importante observar otros factores como la velocidad y sincronización durante la germinación.

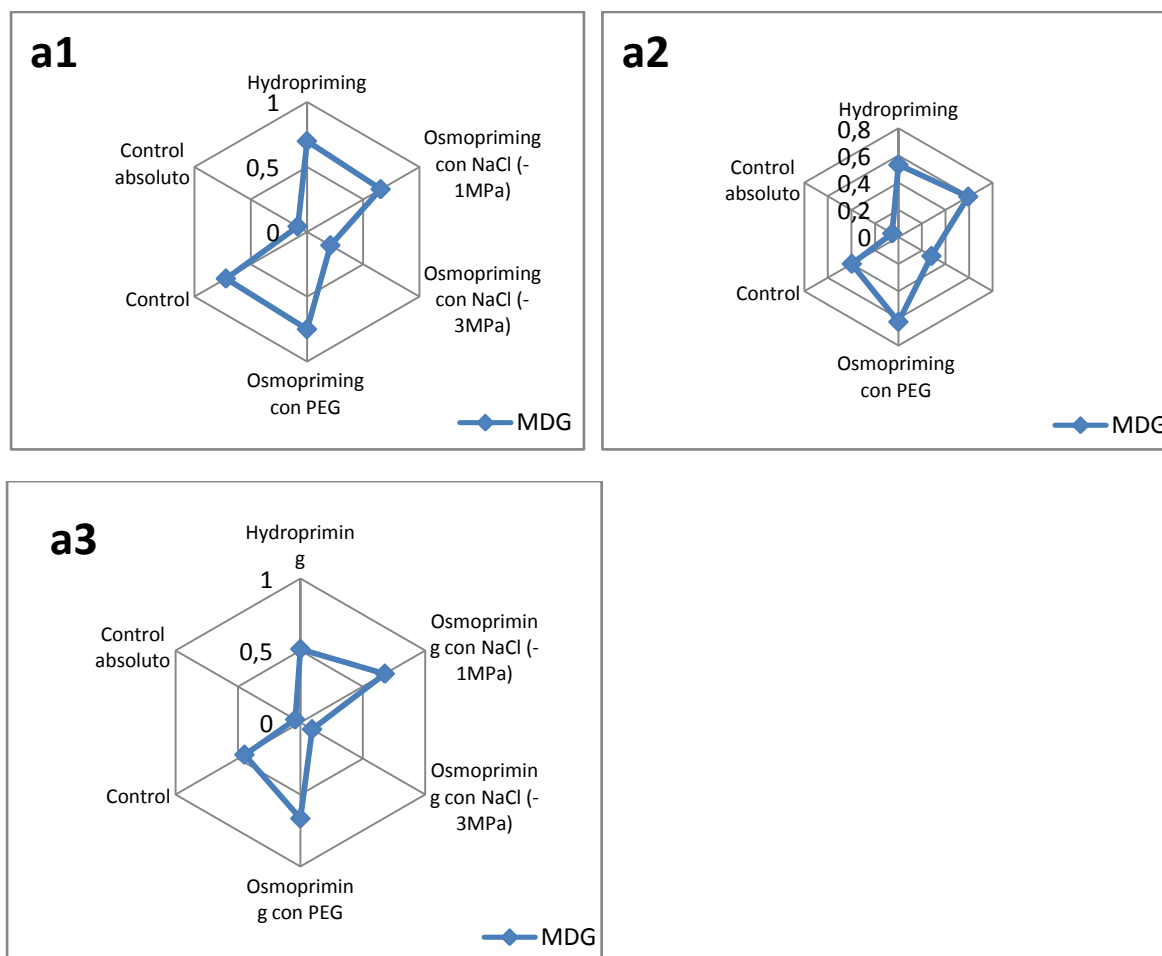


Fig. 10. Respuesta de índice MDG por efecto de los tratamientos para las 3 procedencias

La prueba de duncan indicó que para las semillas de las tres procedencias, los tratamientos b4, b2 y b1 no presentaron diferencias significativas para este índice (anexo 10)( tabla 36), indicando que los acondicionamientos de priming mejoran la germinación media diaria, independientemente de si se trabaja con cambios en los potenciales del medio o solo agua..

**GV (Valor germinativo):** es un índice que mide la relación entre la germinación media diaria y el valor pico, relacionando así la velocidad germinativa, la sincronización y la capacidad germinativa de las semillas. En este caso este valor indica que el *Hydropriming* en el caso de la procedencia a1 tuvo los mayores resultados seguido por los tratamientos b4, b5 y b2 respectivamente demostrando que a pesar que la germinación media diaria no difiera entre los tratamientos b1, b2, b4, b5, el *Hydropriming* logro mejorar aspectos de homogeneidad y velocidad de germinación. En el caso de la procedencia a2 y a3 se

pudo observar que los mejores resultados los presentó el *Osmoprining* con PEG a -1MPa (anexo 9). Indicando que tanto el *Hydropriming* como el *Osmoprining* son acondicionamientos fisiológicos con capacidad de incrementar la germinación y su sincronización.

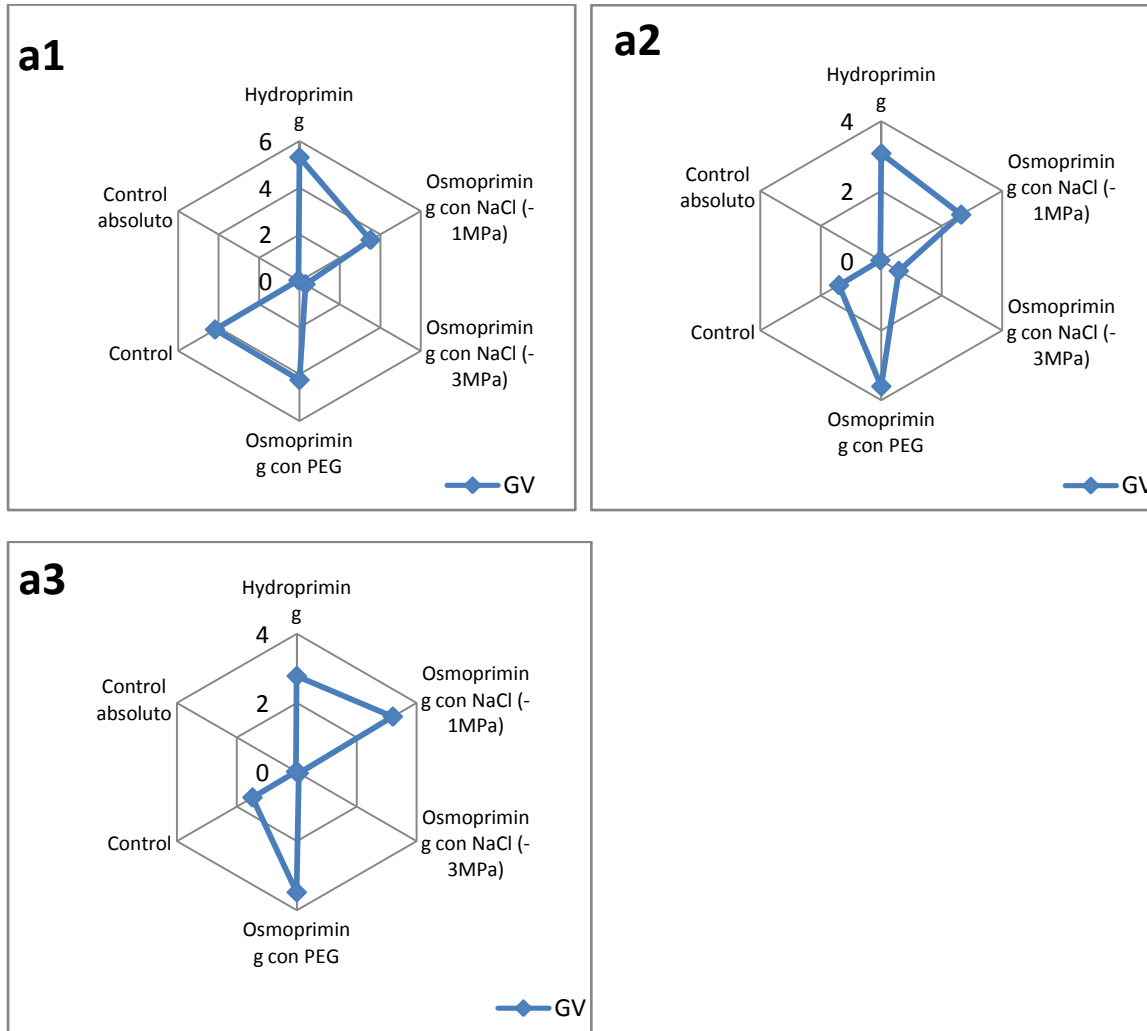


Fig 11 .Respuesta del indice GV por efecto de los tratamientos para las 3 procedencias

### 6.8 Modelo factorial

Según los resultados de incidencia de los factores sobre los índices de germinación, GRI, PV, R50, R50', MDG y GV, el factor tratamientos fue el más incidente para el momento de la germinación, la procedencia indico valores bajos para todos los índices de germinación y la relación entre los factores tratamientos y procedencias mosto valores significativos únicamente para el índice R50' (tabla 4).

Tabla 4. Incidencia en porcentajes de los factores evaluados sobre los índices de germinación

Componentes de varianza (%)							
Fuente de variación	GC	GRI	PV	R <sub>50</sub>	R <sub>50'</sub>	MDG	GV
Procedencias	4,47	4,60	4,15	0,83	5,04	4,36	8,90
Tratamientos	89,52	89,04	91,29	84,74	52,10	89,80	81,18
Procedencia* Tratamientos	6,01	6,35	4,56	14,43	42,86	5,84	9,92

Según los resultados obtenidos, el factor procedencias mostro baja incidencia para los índices obtenidos demostrando que la germinación de las semilla de las tres procedencia no muestran diferencias significativas. Estos valores llegan a ser útiles debido a que permite inferir que la madurez de las semillas de las tres procedencias se mantenía a un nivel homogéneo, teniendo relación con las pruebas indicadoras de madurez (contenido de humedad, curva de imbibición) (Anexo3) cuyos resultados indicaron cierta homogeneidad en cuanto a su madurez fisiológica.

En este caso los tratamientos fueron el factor con mayor incidencia en cuanto a la germinación, esto debido a las pocas diferencias halladas en la germinación entre semillas de las 3 procedencias y también porque los tratamientos aplicados son acondicionamientos capaces de activar procesos metabólicos, favorables para aumentar la germinación en cuanto a capacidad, velocidad y sincronización germinativa. Debido a esto en este caso, los tratamientos fueron el factor determinante para la germinación de estas semillas.

La relación de la procedencia con los tratamientos presentaron una incidencia alta en el caso del índice de velocidad de germinación "R<sub>50'</sub>", demostrando que la calidad y madurez de la semillas de estas procedencias son factores determinante para que los tratamientos aplicados funcionen mejor y más rápido.

#### 6.9 Análisis de calidad de plántulas

El crecimiento de las plántulas fue evaluado después de un mes de haber sido germinadas las semillas. El tratamiento b6 (control absoluto) no pudo ser probado durante la fase de plántulas debido a su bajo porcentaje de germinación para las tres procedencias.

Los resultados según el análisis de varianzas, mostraron que hay pocas diferencias significativas por efecto de los tratamientos (Anexo 11). La variable de longitud de tallo indico diferencias significativas por efecto de los tratamientos, en el caso de la procedencia a1 y a2, se reveló que las plántulas que pasaron

por los tratamientos b2 (NaCl -1MPa), b3 (NaCl -3MPa) y b4 (PEG) fueron los que presentaron tallos más cortos (Anexo 12) (tablas 42, 43, 44). El control y el tratamiento b1 tuvieron los mejores resultados en cuanto a la longitud del tallo. Indicando que los tratamientos que contenían soluciones osmóticas ocasionaron la reducción en la elongación del tallo, provocado posiblemente en una primera instancia por el estrés osmótico causado por el pre-acondicionamiento, además posiblemente el gasto de energía de las células al producir “*Heat Shock Proteins*” (HSP) causa disminuciones en el crecimiento de algunas partes de las plantas (30).

En el caso de las otras medidas directas, no se observaron diferencias significativas con relación a los tratamientos para ninguna de ellas, posiblemente a causa de que solo se realizó un muestreo, el tiempo transcurrido entre el periodo de germinación y el periodo de colecta para las respectivas mediciones fue durante un periodo corto, causando que las diferencias existentes entre tratamientos no se evidenciaron claramente.

Las medidas directas con relación a las procedencias, presentaron diferencias significativas en las mediciones de área foliar, peso de hojas y el peso de los tallos. En este caso para las tres variables medidas, las procedencias a2 (Los Frutales) y a3 (San Carlos) (Anexo 13) (tablas 50,52, 56) presentaron diferencias significativas con las procedencias a1 (El Lote). Indicando que los mayores valores para estas tres variables las presentó la plántulas de la procedencia a2 (Los Frutales) seguido de la procedencia a3 (San Carlos) y por último la procedencia a1 (El Lote). Indicando que independientemente de los tratamientos aplicados, las procedencias a2 (Los Frutales) seguido por a3 (San Carlos) tienen las plántulas con mayor área fotosintética, pudiendo proporcionar mayor capacidad de aumentar su biomasa. Estas diferencias pueden deberse a las características genéticas y fisiológicas de la planta, independientemente de los tratamientos aplicados.

**RAF (Relación de Área Foliar):** este índice indica la relación entre el área foliar y el peso seco total de la planta, básicamente muestra la utilización de asimilados en la fotosíntesis a partir de la relación del área foliar y el peso seco de la planta. En este caso se vieron diferencias significativas para este índice con relación a los tratamientos. El tratamiento b5 (control) presentó los valores más bajos, con diferencias significativas con relación a los otros tratamientos (b1, b2, b3, b4) cuyos resultados no mostraron diferencias significativas entre ellos (anexo 13) (tabla 57). Debido a que este índice es una medida de balance entre la capacidad fotosintética potencial y el costo respiratorio potencial, se deduce que el *Hydropriming* y *Osmoprimering* aplicados mejoraron aspectos fisiológicos en la planta durante el primer mes de crecimiento, indicando mayor producción de foto asimilados para su utilización (29).



**AFE (Área Foliar Específica):** Es un índice que expresa la relación entre el área foliar y el peso seco de las hojas, representa la superficie foliar por gramo de hoja. En este caso no se vieron diferencias significativas entre tratamientos ni procedencias para este índice, causado posiblemente por el corto tiempo de evaluación de las plántulas, según estos resultados no hay diferencias en cuanto al grosor y densidad de hojas de las plantas expuestas a los diferentes tratamientos (anexo 13) (tabla 58).

**RPF (Relación de Peso Foliar):** Es un índice que expresa la relación entre el peso seco foliar y el peso seco total de la planta. Cuantifica la distribución de asimilados hacia las hojas, y es un indicador de frondosidad de las plantas. En este caso se pudo observar que los tratamientos b1 y b5 en las tres procedencias no presentaron diferencias significativas entre sí, pero si presentaron diferencias con los tratamientos b2 y b3 siendo estos, acondicionamientos de *Osmoprining* con NaCl (anexo 13) (tabla 59). Algunas de estas diferencias no fueron significativas, pero si mostraron mayores valores las plántulas expuestas a tratamientos de *Osmoprining*, indicando que el estímulo de la maduración seminal y la activación metabólica interna causada por el acondicionamiento fisiológico, puede ser importante para aumentar la biomasa en las hojas de las plántulas, ya que es conocido que en algunos casos los acondicionamientos osmóticos incrementan el peso seco total de las plántulas, debido a la adecuada distribución de asimilados e incremento en la biomasa (31).

**RMR (Relación de Masa Radical):** indica la relación entre el peso seco de la raíz y el peso seco total de la planta, determina la distribución de asimilados hacia la raíz. Algunos estudios han llegado a concluir que potenciales osmóticos negativos afectan el crecimiento de la raíz, causando raíces más cortas y disminución de la velocidad de crecimiento de las mismas (32). En este caso no se vieron diferencias significativas entre los tratamientos con relación al crecimiento ni al peso seco de la raíz (anexo 13) (tabla 61).

#### 6.10 Modelo factorial

Para la mayoría de las variables y de los índices, el factor con mayor influencia fue “tratamientos”, los índices menos afectados por este factor fueron, el área foliar, el peso seco de las hojas y el peso seco del tallo. El factor procedencia no tuvo mucha incidencia en la mayoría de los datos obtenidos, sin embargo fue un factor determinante para las variables de área foliar, peso seco de hojas, peso seco de tallos y el índice de relación de masa radical. La relación entre tratamientos y procedencia fue relevante para todas las variables e índices obtenidos (tabla 5).

Tabla 5. Incidencia en porcentajes de los factores evaluados sobre los índices de crecimiento de las plántulas de *Passiflora edulis*

Componentes de varianza (%)										
Fuente de variación	LT	LR	AF	PH	PT	PR	RAF	AFE	RPF	RMR
Procedencias	13,68	18,51	40,08	31,85	46,87	17,80	12,53	15,16	11,63	34,88
Tratamiento	41,62	46,97	16,54	9,90	10,34	50,69	56,24	49,07	55,85	35,21
Procedencia Tratamiento *	44,69	34,52	43,38	58,26	42,79	31,51	31,23	35,77	32,53	29,91

Según estos resultados, las procedencias y la relación entre procedencias y tratamientos fueron los factores más determinante para el área foliar, el peso seco de las hojas y peso seco de tallos, mostrando que las características propias de la semilla son necesarias para obtener semillas y plántulas de buena calidad, pero algunas de estas características que determinan la calidad, pueden ser modificadas con acondicionamientos fisiológicos, para mejorar aspectos de vigor y crecimiento en las plántulas.

## 7. CONCLUSIONES

- Las semillas con mejor calidad fisiológica pertenecen a la procedencia a1 (El lote) debido a que presentaron mejor capacidad germinativa y mayor velocidad de germinación además el efecto del *Osmoprining* con PEG y NaCl a -1MPa concedieron mayor capacidad germinativa para las semillas de las tres procedencias sin embargo las semillas sometidas al *Hydropriming* presentaron mayor velocidad y sincronización de germinación.
- Los índices de crecimiento (RAF, AFE, RMR y RPF) indicaron que los tratamientos de *Osmoprining* estimulan la distribución de asimilados en las plántulas aumentando su peso seco total durante el primer mes de crecimiento.
- Los resultados de este trabajo aportan metodologías y criterios para la certificación de semillas de *Passiflora edulis*.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

1. Llamas, K.A. 2003. "Tropical flowering plants a guide to identification and cultivation". Editorial Timber Express. Portland. Pp. 309-310
2. Costa, A.M. & H, Cavalcante. 2010. "Desarrollo tecnológico para uso de las pasifloras silvestres como alimentos funcionales y medicinales". En: Primer Congreso Latinoamericano de Pasifloras. Primera edición. Colombia. Pp. 98-104.
3. CEPASS. Huila Unido. Corporación Centro de Investigación para la Gestión Tecnológica de Pasiflora del departamento del Huila. 2011. [En línea], disponible en: <http://www.cepasshuila.org.co/cms/>, recuperado: 21 de septiembre de 2011
4. Calle, Z.; Guariguata, M.; Giraldo, E. y Chará, J. 2010. "La producción de maracuyá (*Passiflora edulis*) en Colombia: Perspectivas para la conservación del hábitat a través del servicio de polinización", en *Interciencia*, vol. 35, núm. 3, pp. 207-212
5. Salazar, A. 2000. "Evaluación del efecto de la procedencia y el grado de madurez de los frutos de dos especies de Passiflora: *Passiflora mollissima* (H.B.K) Bailey y *Passiflora ligularis* Juss sobre la germinación de sus semillas" [trabajo de grado], Bogotá, Pontificia Universidad Javeriana, Carrera de Biología.
6. ISTA, (2006), International rules for seed testing, Bassersdorf. International Seed Testing Association.
7. Sánchez, J.; Orta, R. y Muñoz, B. 2001. "Tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación de las semillas y sus efectos en las plantas de interés agrícola". *Agronomía Costarricense*, vol. 25, núm. 1, pp. 67-92
8. Corporación Colombiana Internacional (CCI). 2003. Inteligencia de mercadeo perfil de producción, maracuyá. [en línea], disponible en : [http://www.cci.org.co/cci/cci\\_x/Sim/Perfil%20de%20Productos/perfil%20producto%2019%20final.pdf](http://www.cci.org.co/cci/cci_x/Sim/Perfil%20de%20Productos/perfil%20producto%2019%20final.pdf), recuperado: 17/09/2011
9. Sistema de información regional (SIR). Huila en cifras. [en línea] disponible En: [http://www.sirhuila.gov.co/index.php?option=com\\_content&view=article&id=87&Itemid=144&limitstart=2](http://www.sirhuila.gov.co/index.php?option=com_content&view=article&id=87&Itemid=144&limitstart=2) recuperado: 24/09/2011
10. Instituto de Hidrología Meteorología y Estudios Ambientales (IDEAM). 2002 Efectos naturales y socioeconómicos del Fenómeno El Niño en Colombia. Disponible en: <http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/cd29/colombia-efectos.pdf> recuperado: 16 de agosto de 2011.
11. Bewley, D. 1997, "Seed germination and dormancy". *The Plant Cell* , vol. 9, pp.1055-1066
12. "La Plata", 2011. [en línea], disponible en: <http://www.laplata-huila.gov.co/nuestromunicipio.shtml?apc=I-xx-1-&s=m&m=I>, recuperado: 17 de agosto de 2011

13. García, M. 2002. Guía técnicas, Cultivo de maracuyá amarillo. Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria Forestal, pp. 9-15
14. Ortega, A. (2006), Estudios en fisiología de semillas de *Passiflora rubra* L. en dos épocas de colecta en el Jardín Botánico del Quindío [trabajo de grado], Bogotá, Pontificia Universidad Javeriana, Carrera de Biología
15. Fischer, G. 2010. Condiciones ambientales que afecten crecimiento, desarrollo y calidad de las pasifloráceas. En: Primer Congreso Latinoamericano de Pasiflora. Primera edición. Colombia, pp. 10-20
16. Comisión Veracruzana de Comercialización Agropecuaria (CVCA).2011. “Perfil de maracuyá” [en línea], disponible en: <http://portal.veracruz.gob.mx/pls/portal/docs>, recuperado: 6 de septiembre de 2011
17. Angelovici, R., Galili, G., Fernie, A. y Fait, A. 2010, “Seed dessication: a bridge between maturation and germination”, en *Trends in Plant Science*, vol. 15, núm, 4, pp. 211-218
18. Ramirez, C. Hilhorst, H. & E, Hodson. 2008. Viability and seed germination of *Passiflora mollissima* (H.B.K) Bailey according to provenance and fruit ripening stage. Red Alfa Lagrotech. 146-190pg. Disponible en: [http://educon.javeriana.edu.co/lagrotech/images/claudia\\_ramirez.pdf](http://educon.javeriana.edu.co/lagrotech/images/claudia_ramirez.pdf)
19. Cárdenas, J. “Morfología y tratamientos pre-germinativos de semillas de granadilla (*Passiflora ligularis* Juss)”. [trabajo de posgrado], Bogotá, Universidad Nacional de Colombia, pp. 8-11
20. Martínez, G., Ojeda, M., Buffa, E. 2007. Secuencia metodológica para la selección y conservación de germoplasma medicinal: el caso de *passiflora caerulea* l. (passifloraceae) en las sierras de córdoba. Bol. Latinoam. Caribe Plant. Med. Aromaticas Vol. 6 , pp 401-402 Disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/856/85617472043.pdf>
21. Wagner, J.A., R.S. Alexandre, J.R. da S. Negreiros, A. Parizzotto, y C.H. Bruckner. 2005. Influência da escarificação e do tempo de embebição de maracujazeiro (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Degener). Revista Ceres 52(301), 369-37
22. Sánchez, J.M. Mejía, J.A. Hernández, A. Peña, A. & A, Carballo. 2007. Acondicionamiento osmótico de semillas de tomate de cáscara. Agricultura Técnica en México. 33. 115-123pp
23. Sánchez, J.A., Orta, R., Muños, B. 2001.Tratamientos pre germinativos de hidratación-deshidratación de las semillas y sus efectos en plantas de interés agrícola. Agronomía Costarricense. 25, num.1, pp. 67-92
24. Saglam, S., Day, S., Kaya, G. y Gurbuz, A. 2010. “Hydropriming increases germination of lentil (*Lens culinaris* Medik.) under Water Stress”, en *Notulae Scientia Biologicae*, vol. 2, núm. 2, pp. 103-106

25. Neamatollahi, E. Bannayan, A. Souhani, D. & A, Ghanbari. 2009. “*Hydropriming* and *osmopriming* effects on cumin (*Cuminum cyminum* L.) seeds germination”. World Academy of Science. Engineering and Technology, vol 57, pp 526-528.
26. Golshani, O. Pirdashti, H. Saeb, K. Babakhani, B. & A, Heidarzade. 2010. Response of seed germination and seedling emergence of rice (*Oryza sativa* L.) genotypes to different *Osmopriming* levels.
27. ICA (2010), “Resolución 970 de 2010”. [en línea], disponible en: <http://www.ica.gov.co/getattachment>, recuperado: 18 de marzo de 2011.
28. Czabator, F.J. 1962. Germination: an index combining speed and completeness of pine. Seed germination. Forest Science . 8, pp 386-396.
29. Tamayo, M. Rodríguez, L & W, Escobar. 2010. Estudio de propagación sexual del arboloco *Montanoa quadrangularis* Schultz Bipontianus Asteraceae. Universitas Scientiarum. Vol 15 (1) 37-48.[en línea] Disponible en: [www.javeriana.edu.co/universitas\\_scientiarum](http://www.javeriana.edu.co/universitas_scientiarum), recuperado: 20 de septiembre del 2011
30. Varier, A., Vari, A., Dadlani, M. 2010. The subcellular basis of seed priming. Currente Science. 99, Vol.99 num. 4, pp 450-456.
31. Sánchez, J., Mejía, J., Hernández, A., Peña, A., Carballo, A. 2007. Acondicionamiento Osmótico de semillas de tomate de cascara. Agricultura Técnica en México. Vol.33 núm. 2, pp 115-123
32. Patané, C.; Cavallaro, V. y Cosentino, S. (2008, octubre-diciembre), “Germination and radicle growth in unprimed and primed seeds of sweet sorghum as affected by reduced water potential in NaCl at different temperatures”, en Industrial Crops and Products, vol. 30, pp. 1-8