

**EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS DE DESINFECCIÓN EN LA REPRODUCCIÓN
DE MATERIAL VEGETAL DE MARACUYÁ (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa*) PARA
PROPAGACION *IN VITRO* Y ALMACIGO EN VIVERO EN LA GRANJA
AGROSTOLOGICA DE TRES ESQUINAS DE LA UNIDAD CENTRAL DEL VALLE DEL
CAUCA**

Alvaro José Valencia Arboleda

Facultad de ingeniería, Unidad central del valle del cauca

Ingeniería agropecuaria

Valentina Lamus Molina

Febrero de 2022

Dedicatoria

A mi madre por todo el apoyo que me brindo durante toda la duración de mi carrera en los momentos más difíciles me mostró que la capacidad de realizar las tareas y alcanzar mis objetivos solo depende de mí fortaleza como estudiante

A mis familiares por la ayuda y el apoyo de mis actividades universitarias

Agradecimientos

Agradezco a la Unidad Central del Valle del Cauca por brindarme la oportunidad del conocimiento y el aprendizaje de esta carrera profesional que me lleno de sabiduría

A la PhD. Valentina Lamus Molina como una docente ejemplar que me brindo el apoyo suficiente por el cual logre adquirir una gran experiencia en mi vida universitaria siendo la base fundamental para la vida profesional

Contenido

p.

Resumen.....	7
Abstract.....	8
1. Introducción.....	9
3. Justificación.....	13
4. Objetivo general.....	15
4.1 Objetivos específicos.....	15
5. Marco de referencia.....	16
5.1 Marco teórico.....	16
5.2 Marco legal.....	30
5.2 Marco conceptual.....	32
6. Metodología.....	36
7. Resultados y discusión.....	53
7.1 Obtención de plantas madre de <i>Passiflora edulis</i> en almacigo para su posterior utilización en los protocolos de desinfección <i>in vitro</i> y en vivero.....	53
7.1.1 Análisis de Varianza.....	59
7.2 Evaluación de la eficacia de los protocolos de desinfección en el establecimiento de material vegetal <i>in vitro</i> y en almacigo en vivero.....	65
7.3 Evaluación de la germinación y el crecimiento de material vegetal de <i>Passiflora edulis</i> en propagación <i>in vitro</i> y en almacigo en vivero.....	71
8. Conclusiones.....	73
9. Recomendaciones.....	75
10. Glosario.....	76

Referencias 78

Índice de tablas

		p.
Tabla 1	<i>Clasificación taxonómica</i>	15
Tabla 2	<i>Protocolos de desinfección</i>	41
Tabla 3	<i>Grupos de experimentación</i>	41
Tabla 4	<i>Semillas in vitro</i>	43
Tabla 5	<i>Semillas vivero</i>	44
Tabla 6	<i>Esquejes in vitro</i>	45
Tabla 7	<i>Esquejes vivero</i>	46
Tabla 8	<i>Germinación y selección de plantas madres</i>	52
Tabla 9	<i>Análisis de varianza para germinación</i>	58
Tabla 10	<i>Análisis de varianza para supervivencia</i>	60
Tabla 11	<i>Análisis de varianza para viabilidad</i>	62
Tabla 12	<i>Distribución de frecuencias para desinfección grupo 1</i>	66
Tabla 13	<i>Distribución de frecuencias para desinfección Grupo 2</i>	67
Tabla 14	<i>Distribución de frecuencias para desinfección Grupo 3</i>	68
Tabla 15	<i>Distribución de frecuencias para desinfección Grupo 4</i>	69
Tabla 16	<i>Distribución de frecuencias para germinación Grupo 4</i>	70

Índice de figuras

	p.
Figura 1 <i>Porte de la planta de maracuyá</i>	16
Figura 2 <i>Hojas primarias y secundarias de maracuyá</i>	17
Figura 3 <i>Zarcillos de la planta de maracuyá</i>	18
Figura 4 <i>Tallo de maracuyá</i>	19
Figura 5 <i>Raíces primarias y secundarias de maracuyá</i>	20
Figura 6 <i>Flor de la maracuyá</i>	21
Figura 7 <i>Fruto y semillas</i>	22
Figura 8 <i>Adecuación del vivero</i>	35
Figura 9 <i>Limpieza del laboratorio y equipos</i>	36
Figura 10 <i>Desinfección de semillas comerciales y convencionales</i>	37
Figura 11 <i>Sustrato y germinación de semillas</i>	38
Figura 12 <i>Plántulas para selección de plantas madre</i>	39
Figura 13 <i>Preparación del medio de cultivo</i>	48
Figura 14 <i>Semillas y esquejes en recipientes de ensayo</i>	50
Figura 15 <i>Cámara de crecimiento in vitro y vivero de la granja</i>	51
Figura 16 <i>Diagrama de cajas para Germinación</i>	53
Figura 17 <i>Diagrama de cajas para Supervivencia</i>	54
Figura 18 <i>Diagrama de cajas para Viabilidad</i>	55
Figura 19 <i>Análisis acumulado de las variables</i>	56
Figura 20 <i>Representación grafica de la prueba de Tukey para germinación</i>	59
Figura 21 <i>Representación grafica de la prueba de Tukey para supervivencia</i>	61
Figura 22 <i>Representación gráfica de la prueba de Tukey para viabilidad</i>	63
Figura 23 <i>Representación gráfica de los datos de contaminación</i>	64

Resumen

El cultivo de maracuyá es de gran importancia económica en la región del Valle del Cauca y es necesario mantener la calidad en la preservación y conservación de esta especie frutal desde su propagación y mantenimiento, pero por medio de las afectaciones por plagas y enfermedades su producción puede variar en cada ciclo vegetativo, es por eso que este trabajo tuvo como objetivo la evaluación de protocolos de desinfección y la reproducción de plantas madres con semillas y esquejes de *Passiflora edulis* var. flavicarpa (maracuyá amarillo) para propagación *in vitro* y almacigo en vivero. La selección de plantas madre se realizó por medio de la propagación de semillas desinfectadas con un tratamiento de hipoclorito de sodio al 3% por 5 minutos los resultados de cada variable con 128 semillas convencionales (conv) y 128 semillas comerciales (comr) con una germinación de 111 (conv) a 118 (comr) plántulas, una supervivencia de 67 (conv) a 85 (comr) plantas y una viabilidad de 65 (conv) a 80 (comr) plantas viables. Los resultados en los protocolos de desinfección con el tratamiento de hipoclorito de sodio al 5% por 5 minutos en semillas evaluadas en *in vitro* fue del 80% y en almacigo de 100% de efectividad, con hipoclorito de sodio al 3% por 5 minutos en *in vitro* fue nulo el tratamiento y en almacigo fue del 90%, con yodo al 5% en *in vitro* fue del 30% y en almacigo de 100% y con yodo al 3% en *in vitro* fue nulo y en almacigo fue del 80%. Para los esquejes *in vitro* y en almacigo la efectividad del tratamiento con hipoclorito de sodio al 5% fue del 20%, al 3% con hipoclorito de sodio, con yodo al 5% y al 3% los tratamientos fueron nulos se contaminaron los esquejes testigos no se contaminaron y fueron los que presentaron germinación por medio del enraizamiento. Se establecieron plantas madre de buena calidad para la multiplicación clonal y los protocolos de desinfección utilizados sirvieron para determinar la importancia de la desinfección para la inocuidad frente a patógenos existentes en maracuyá y la afectación en la germinación.

Palabras clave: protocolo de desinfección, planta madre, propagación *in vitro*

Abstract

The cultivation of passion fruit is of great economic importance in the Valle del Cauca region and it is necessary to maintain the quality in the preservation and conservation of this fruit species from its propagation and maintenance, but through the effects of pests and diseases its production can vary in each vegetative cycle, that is why this work aimed to evaluate disinfection protocols and the reproduction of mother plants with seeds and cuttings of *Passiflora edulis* var. *flavicarpa* (yellow passion fruit) for *in vitro* propagation and nursery nursery. The selection of mother plants was carried out through the propagation of seeds disinfected with a 3% sodium hypochlorite treatment for 5 minutes, the results of each variable with 128 conventional seeds (conv) and 128 commercial seeds (comr) with a germination from 111 (conv) to 118 (comr) seedlings, survival from 67 (conv) to 85 (comr) plants and viability from 65 (conv) to 80 (comr) viable plants. The results in the disinfection protocols with the 5% sodium hypochlorite treatment for 5 minutes in seeds evaluated *in vitro* was 80% and 100% effective in nursery, with 3% sodium hypochlorite for 5 minutes in *in vitro* treatment was null and in nursery it was 90%, with 5% iodine *in vitro* it was 30% and in nursery 100% and with 3% iodine *in vitro* it was null and in nursery it was 80% . For *in vitro* and nursery cuttings, the effectiveness of the treatment with 5% sodium hypochlorite was 20%, 3% with sodium hypochlorite, with 5% and 3% iodine, the treatments were null, the control cuttings were contaminated they were not contaminated and they were the ones that presented germination through rooting. Good quality mother plants were established for clonal multiplication and the disinfection protocols used served to determine the importance of disinfection for safety against existing pathogens in passion fruit and the impact on germination.

Keywords: disinfection protocol, mother plant, *in vitro* propagation

1. Introducción

El cultivo de maracuyá en el país se cataloga como un importante eslabón en la comercialización de frutas a nivel nacional e internacional el cual es importante para los productores de la mayoría de las pasifloras, siendo este modelo de producción el que cuenta con más áreas sembradas a nivel nacional, las evaluaciones agropecuarias municipales muestran que el país tiene sembrado 10.943 Ha de las cuales 8.223 Ha son cosechadas con una producción de 138.590Ton con un rendimiento de 16.85 Ton/Ha (Minagricultura,2017).

La gran demanda presentada para la exportación de estos cultivos a nivel internacional ha permitido que diferentes países extiendan las áreas de producción logrando aumentar investigaciones referentes a la fisiología, control de plagas y enfermedades que afectan los cultivos de pasifloráceas (Delgado et al., 2013). Las Pasifloráceas, pertenecen a una familia de plantas con una distribución geográfica tropical, esta comprende de 17 géneros y de más de 660 especies originaria de Brasil, donde llego a ser extendida hasta Australia. En América (Perú, Ecuador, Venezuela y Colombia) se encuentran localizados más de 4 géneros y alrededor de 500 especies en su gran mayoría identificadas como Pasifloras (Marín et al., 2009). El maracuyá amarillo (*Passiflora edulis var. flavicarpa*) produce una fruta con características especiales por su sabor intenso, alta acidez, agradable aroma y elevado contenido de vitamina C (Miranda et al., 2009), el cual permite que con estas características su comercialización sea importante.

Dentro de la siembra del cultivo de maracuyá de manera intensiva y extensiva existe la posibilidad de que se incrementen los problemas fitosanitarios como las pudriciones y marchitamiento de tallos y raíces causados por nematodos y virus asociados, con corto tiempo en almacigo ya que es una planta de un periodo de establecimiento plántulas directo en campo hasta su producción de 18 a 24 meses, este cultivo se expone a patógenos

anteriormente mencionados y plagas que afectan el tejido foliar, floración e insectos perforadores de frutos con un manejo integrado de plagas y enfermedades que van desde el manejo en vivero en su reproducción hasta la siembra y su cosecha en el terreno de trabajo. En este trabajo de investigación se evaluaron diferentes protocolos de desinfección en la reproducción de maracuyá el cual servirá para garantizar la inocuidad de la germinación de plántulas de maracuyá en la granja agroecológica de la Unidad Central Valle del Cauca (UCEVA).

2. Planteamiento, descripción y formulación de problema

Dentro de las características principales de manejo en el valle del cauca para la reproducción de las pasifloráceas se encuentran establecidas unas actividades de propagación cruciales para garantizar la inocuidad y la eficiencia en la germinación de las semillas o explantes de maracuyá. Esta planta se propaga comercialmente por semilla para propagación sexual, aunque se puede propagar por estaca y por injerto (CIAT,2012). En la gran mayoría de los casos el material de siembra utilizado por los agricultores no es el más adecuado lo cual provoca bajos rendimientos y mala calidad del producto (Flores y Brenes,2004). La selección de semilla de sus mejores frutos por parte del agricultor en la zona centro y norte del valle del cauca es una tarea frecuente en la propagación de maracuyá. En muchas regiones andinas productoras de pasifloras, gran parte de las semillas utilizadas son obtenidas y guardadas por el agricultor donde se extraen las semillas de frutos con madurez fisiológica y su preparación para la siembra o almacenamiento incluye la fermentación y la extracción de semillas del fruto (despulpado) (Rossetto et al., 2000), y para la propagación asexual por esqueje o injerto se considera que este tipo de propagación en pasifloráceas puede ser: convencional a partir de diferentes estructuras de las plantas (principalmente estacas y esquejes) con plantas que conserven la potencialidad de enraizar según características fisiológicas del patrón de propagación, la multiplicación por injertos de segmentos de la planta sobre tallos de plantas receptoras más resistentes y la micropropagación a partir de tejidos vegetales cultivados *in vitro*. Dentro de los métodos de propagación mencionados existe el constante ataque de patógenos que desde el inicio fluctúan entre las plantas según sea su densidad de siembra en almacigo para vivero o directamente en el área a cultivar directamente.

En la región norte del Valle del Cauca los cultivadores de maracuyá se ven afectados por enfermedades fitosanitarias el cual retrasa el crecimiento de la planta

elevando los costos de producción en el cultivo de maracuyá de manera convencional creando inconvenientes en todo el cultivar de maracuyá por plantas susceptibles a plagas y enfermedades. Desde la Unidad Central del Valle del Cauca se plantea proponer un protocolo que garantiza la inocuidad de semillas que se seleccionan por el agricultor y garantizar que la propagación por esquejes tenga un proceso de higiene en su ciclo de germinación garantizando la planta libre de patógenos.

3. Justificación

Los sistemas de propagación que se utilizan en la reproducción del maracuyá por los agricultores de la región siempre han sido los convencionales que conllevan a prácticas que permiten en su mayoría propagar por medio de la elección de plantas madre de la mejor calidad. Esta particularidad de selección se escoge mediante las siguientes características: planta sana sin algún rastro de enfermedad o ataque de plaga en la hoja, tallo o fruto, tamaño idóneo del fruto con buen color, planta con buena vigorosidad desde el cuello del tallo hasta el apéndice vegetativo de la planta. El conocimiento de dichas características puede facilitar la selección de plantas y la producción de híbridos a partir de clones (Bruckner, 1994) o la propagación de plantas vigorosas sin correr el riesgo de multiplicar un material indeseable (Vasconcellos y Cereda, 1994) lo cual facilita la selección de semillas para reproducción sexual.

El sistema de propagación asexual que se utiliza es la multiplicación de esquejes de una planta madre de buenas características previamente seleccionadas dentro del cultivo. Esta propagación, se fundamenta en dos características de las células de los tejidos vegetales, la totipotencia celular (definida como la capacidad que tiene cualquier célula para dar origen a todos los tipos de células diferenciadas de un organismo dado, así como la reproducción completa del organismo (Lackie y Dow, 1989), y la diferenciación entendida como la capacidad de algunas células especializadas, que cumplen funciones en un determinado tejido, de regresar a un estado meristemático (Campana y Ochoa, 2007). Estas cumplen con la función de mostrar las características iniciales de la planta madre seleccionada.

Definiendo estas características de multiplicación vegetal de por qué se realiza la investigación de evaluar protocolos de desinfección a las semillas y tejidos de la planta es necesario reconocer la importancia que tiene este estudio para mejorar la eficiencia de germinación que tienen las especies cultivadas con semillas o esquejes desinfectados

realizando el procesos de eliminación de patógenos existentes tanto en el material vegetal como en el ambiente factores que son propicios para la supervivencia de microorganismos patógenos asociados a el cultivo de maracuyá. Con la aplicación de estos protocolos se garantiza en la especie la calidad e inocuidad en su proceso vegetativo por el cual cumple con los parámetros de buenas prácticas agrícolas BPA donde la mayoría de los agricultores no cumplen con este requisito o en su momento no está siendo aplicado por los viveros de multiplicación de maracuyá en la región del Valle del Cauca, lugares propicios para los focos de plagas y enfermedades.

Entre las técnicas biotecnológicas más usadas se encuentra el cultivo de tejidos, el cual consiste en cultivar un explante con potencialidad de diferenciación bajo condiciones asépticas, en presencia de una dieta balanceada de nutrientes y hormonas (Roca y Mroginski 1991), entre sus ventajas está la propagación en forma masiva de una planta seleccionada con características notables de rendimiento y calidad, obteniendo réplicas de iguales características a la planta original y como consecuencia un crecimiento más rápido y cosechas más uniformes (Flores y Brenes, 2004). La multiplicación *in vitro* es especialmente útil en cultivos como la granadilla que son de polinización abierta y se propagan por semilla, lo que ha conducido al establecimiento de plantaciones des uniformes y la obtención de frutos sin calidad (Flores y Brenes,2004). Por esta razón se puede establecer protocolos que presenten características de mejora con la aplicación de nuevas tecnologías a las prácticas culturales convencionales que realizan los cultivadores de maracuyá y los viveros en el cual se propaga esta especie presentando una propuesta de mejora frente a la selección y calidad aséptica de semillas y esquejes al producir plantas *in vitro* que presenten vigorosidad en el inicio de su ciclo vegetativo.

4. Objetivo general

Evaluar protocolos de desinfección en la reproducción de material vegetal de maracuyá (*Passiflora edulis*) para propagación *in vitro* y almacigo en vivero en la granja agrostológica de tres esquinas de la Unidad Central del Valle del Cauca.

4.1 Objetivos específicos

- Obtener plantas madre de *Passiflora edulis* en almacigo en vivero para su posterior utilización en los protocolos de germinación y propagación *in vitro* y en vivero.
- Evaluar la eficacia de los protocolos de desinfección en el establecimiento de material vegetal *in vitro* y en almacigo en vivero.
- Evaluar la germinación y el crecimiento de material vegetal de *Passiflora edulis* en propagación *in vitro* y en almacigo en vivero.

5. Marco de referencia

5.1 Marco teórico

Las plantaciones de maracuyá en el país han sido de gran importancia para el comercio de grandes cadenas de supermercados como para el pequeño comerciante es por eso necesario reconocer su origen manejo y como su reproducción se ha hecho por largos años en el Valle del Cauca, Colombia y el mundo.

Origen y descripción taxonómica de la especie

El maracuyá (*Passiflora edulis Sims forma flavicarpa*) es originario de América específicamente de Brasil, aunque fue introducida a Australia y llegando a través de Hawái como introducción de frutas amazónicas (Amaya, 2009). Para su origen y la cultura se dice que su procedencia y hallazgo como planta se dio en Brasil enfocados en el centro de este país y es también una de las especies cultivadas en zonas tropicales (Lima y Cuhna, 2004).

Tabla 1

Clasificación taxonómica

División	Espermatofita
Subdivisión	Angiosperma
Clase	Dicotiledónea
Orden	Perietales
Familia	Passifloraceae
Genero	<i>Passiflora</i>
Especie	<i>edulis</i>
Variedad	<i>flavicarpa</i>

Nota. División taxonómica. Tomado de (Amaya,2009).

Descripción botánica de la especie

Porte de la planta: es una planta de perfil trepador en su estructura caracterizada por ser leñosa de cultivo perenne con la formación de zarcillos como soporte en espaldera o superficie donde puede enredar su crecimiento como se observa en la figura 1 (García, 2002).

Figura 1

Porte de la planta de maracuyá.



Nota: Tomado de <http://santic.rds.hn/wp-content/uploads/2013/06/Guia-la-produccion-de-Maracuya.pdf>

Hojas: son de forma alterna, con un color verde brillante con tres lóbulos y bordes finos, poseen peciolo que son glabros en la parte superior de la hoja con unas nervaduras en ambas caras de tono marrón como se observa en la figura 2. Las axilas de las plantas brotan zarcillos lo que le facilita asirse (García, 2002).

Figura 2

Hojas primarias y secundarias de maracuyá



Nota. Hojas por el haz y envés de maracuyá. Fuente: Tomado de https://image.freepik.com/foto-gratis/hojas-maracuya-sobre-superficie-blanca_51524-12632.jpg

Zarcillos: Estos se originan en las axilas de las hojas junto a las flores, fijándose al tacto con cualquier superficie, dándole a ésta el hábito trepador. Son redondos, en forma de espiral y llegan a medir hasta 40 cm, como se observa en la figura 3 (CEDEVA,2016).

Figura 3

Zarcillos de la planta de maracuyá



Nota. Zarcillos en formación. Fuente: Tomado de https://http2.mlstatic.com/plantines-de-maracuya-D_NQ_NP_843311-MLA20539786195_012016-F.jpg

Tallo: esta planta posee la característica de ser trepadora el cual su tallo es de base leñosa y por su forma de enredadera entre más crece pierde su consistencia leñosa. Es circular como se ve en la figura 4, aunque en otras especies como *P. alata* y *P. quadrangularis* es cuadrado (CENTA,2002).

Figura 4

Tallo de maracuyá

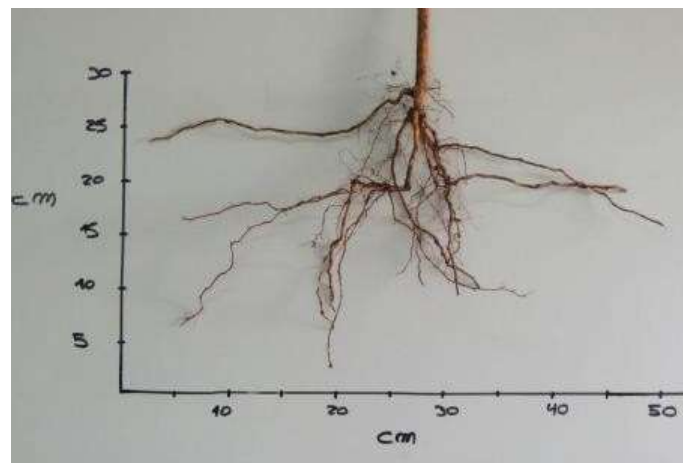


Nota. Tallo leñoso. Fuente: Tomado de <https://agrotendencia.tv/agropedia/wp-content/uploads/2019/09/imagen14-2.jpg>

Raíces: Presenta un sistema radicular ramificado, no posee raíz pivotante ni superficial su profundidad alcanza los 45 cms lo que recomendable no realizar labores de remoción del suelo junto a la planta. Su radio de presencia de raíces está a 60 cms del tallo factor clave a la hora de fertilizar, las raíces se ven en la figura 5 (CENTA,2002)

Figura 5

Raíces primarias y secundarias de maracuyá

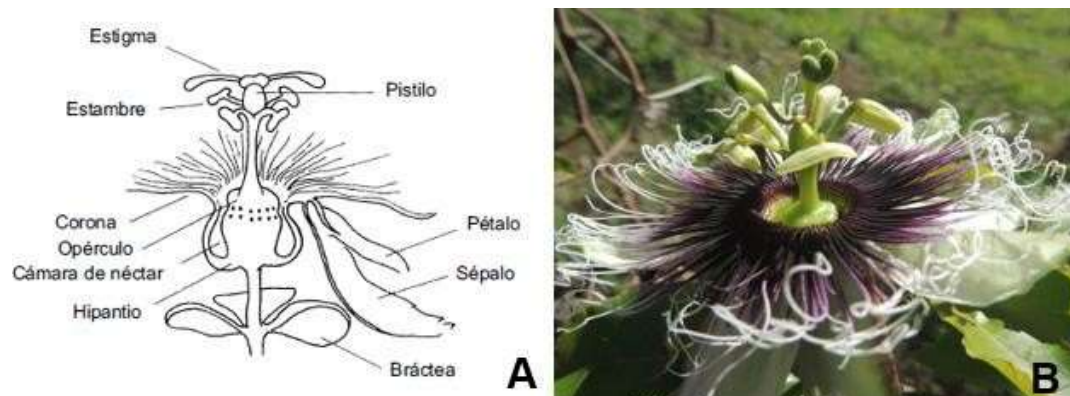


Nota. Medición de raíces. Fuente: Tomado de https://inta.gob.ar/sites/default/files/cartilla_maracuya_0.pdf

Flores: la flor del maracuyá es perfecta (hermafrodita). En el ápice del pedúnculo se encuentran tres brácteas que protegen al botón floral en sus primeros estados de desarrollo. El cáliz está conformado por 5 sépalos de color blanquecino en la cara interna, y verdosos en la cara externa; la corola por 5 pétalos de colores blancuzcos, y la corona por numerosos filamentos de color blanco en el exterior y púrpuras hacia la base. Los órganos reproductivos están sostenidos por una columna llamada androginóforo; el gineceo está formado por un ovario súpero del cual salen 3 estilos que soportan a los estigmas, y el androceo por 5 estambres compuestos por los filamentos estaminales que sostienen a las anteras (Núñez y Levandovski, 2019), figura 6.

Figura 6

Flor de la maracuyá



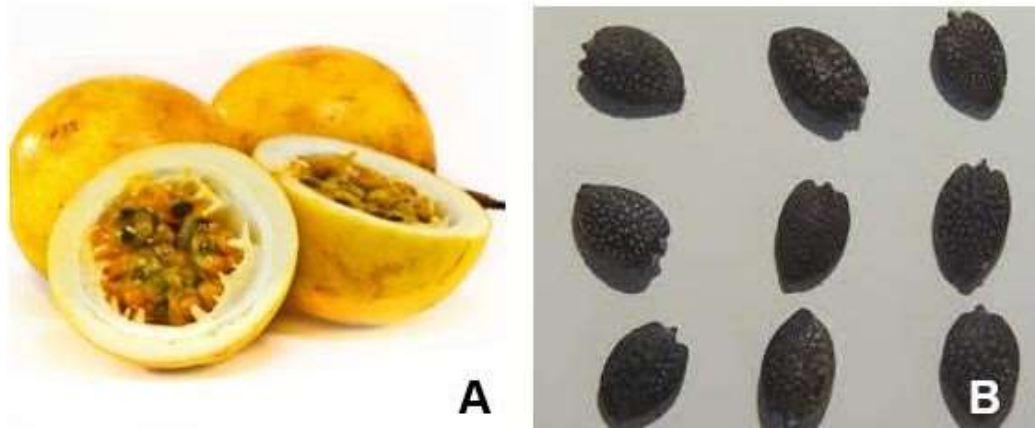
Nota. A. corte lateral de flor de maracuyá. B. vista frontal de flor completa.

Tomado de <http://estaticos.muyinteresante.es/rscs/articles/5737/maracuya.jpg>

Frutos: El fruto es una baya globosa u ovoide. El epicarpio es coriáceo, ceroso, liso, y de color amarillo en estados avanzados de madurez. El mesocarpio es esponjoso, de color blanco. El endocarpio (arilo) está adherido a la pared del fruto por una capa en forma de bolsa con funículos provenientes de la placentación parietal; es de aspecto mucilaginoso, de color amarillo, y rodea a las semillas, siendo la parte comestible del fruto (pulpa) (Figura 7). Las semillas son numerosas, superiores a 250 por fruto; de color negro, de testa dura con presencia de hendiduras (Nuñez y Levandovski, 2019), figura 7.

Figura 7

Fruto y semillas



Nota. A. fruta en estado maduro. B. semillas extraídas del fruto. Fuente: Elaboración propia (2021).

Plagas y enfermedades asociadas al cultivo

Plagas

La mosca del ovario (*Dasiops sp.*) es pequeña de color azul metálico, es muy regular encontrarla en los botones florales del maracuyá, tiene un ciclo de vida alrededor de los 35 días dependiendo de las condiciones climáticas y el control, su daño se produce en el botón floral y las pérdidas causadas por este insecto reducen la producción de la planta en un 60% (ICA, 2011).

Arañita roja (*Tetranychus sp.*) es un pequeño acaro (de color rojo intenso en hembras y color rojo pálido en machos adultos) con un tamaño diminuto que logra alcanzar hasta 0.5 mm, su ciclo de vida es corto, pudiendo tomar de 8 a 14 días para pasar de huevo a adulto dependiendo de las condiciones ambientales (ICA, 2011).

Nematodos: *Meloidogyne sp.*

De esta manera el daño y el efecto causado por las plagas particularmente los nematodos como el *Meloidogyne sp.* De tamaño microscópico, transparente a la luz solar y no segmentados se encuentran en grandes poblaciones en el suelo afectando sus raíces lo que predispone para otras enfermedades causadas por virus y bacterias (ICA, 2011).

Enfermedades

La mancha aceitosa causada por la bacteria *Xanthomonas campestris pv flavicarpa* se caracteriza por mostrar lesiones verde oliva acuosas en forma de costra de geometría irregular en ramas, hojas, pedúnculos de la flor y el fruto llegando causar la marchitez (ICA,2011)

El hongo que causa la antracnosis es el *Colletotrichum gloesporioides* que forma machas acuosas de color verde oscuro y causa necrosis en la mayoría de frutos afectando

hasta la pulpa llegando a momificarlos. En los frutos afectados se pueden encontrar las fructificaciones del hongo (ICA, 2011).

El moho gris causado por el hongo *Botrytis cinerea* se da en condiciones de alta humedad para para el cultivo, atanco la florescencia de la planta formado una capa algodonosa negra en los frutos. Este se puede reducir su incidencia en una plantación en época seca (ICA, 2011).

La mancha parda causada por el hongo *Alternaria passiflorae* se presenta en hojas, tallos y frutos de manera circular de color marrón con una mayor afectación sobre la planta con heridas profundas por el brote de las yemas axilares, su propagación se da en épocas de lluvias. Este hongo sobrevive fácilmente en el suelo con presencia de materia orgánica en el suelo (ICA, 2011)

Micropropagación de tejido vegetal

El desarrollo de la técnica de los cultivos de tejidos vegetales desarrolla la capacidad que tiene una planta de regenerar otra de forma idéntica por medio de sus células vegetales. Este proceso permite que se manipulen las características fisiológicas, genéticas y morfológicas de una planta por medio de fitoreguladores de crecimiento que generan cambios metabólicos según el interés que se tengan con los resultados en la aplicación de esta biotecnología vegetal (Perea, 2009).

La multiplicación clonal o micropropagación llamada *in vitro* se hace a partir de un fragmento de la planta madre el cual nos va permitir reproducir una secuencia de plantas iguales que se denominan clones. La parte de la planta más usada para esta labor son las yemas vegetativas donde se establecen en frascos con medio de cultivo con sales minerales, vitaminas, reguladores de crecimiento vegetal, azúcar, agar y agua donde se le controlan factores determinantes en su crecimiento como la temperatura, humedad relativa y patógenos asociados a la planta. Toda la composición de un medio de cultivo depende de la necesidad de nutrientes de toda especie vegetal (Castillo, 2014).

Para el proceso de micropropagación vegetal de plantas o reproducción *in vitro* se describen las fases importantes en un ensayo de investigación con fines académicos o comerciales, todas cumplen el mismo protocolo.

Primera fase de propagación: Preparación para la planta madre

Para poder trabajar con un cultivo en condiciones óptimas se tiene que obtener explantes de buena calidad extraídos de una planta madre el cual en condiciones de invernadero se le debe brindar toda la asepsia posible y una nutrición adecuada donde se muestre un crecimiento vigoroso y libre de patógenos (Castillo, 2014).

Segunda fase de propagación: Desinfección del material vegetal

Seleccionada la planta madre con las mejores características anteriormente mencionadas se procede a desinfectar toda la planta madre para extraer los explantes como yemas, trozos de la hoja sana, parte radicular y semillas que también serán desinfectados evitando la propagación de hongos y bacterias. Este proceso es recomendable realizarlo en cabina de flujo laminar para guardar asepsia. cada esqueje debe ser desinfectado con productos químicos y luego lavados con agua destilada estéril para retirar cualquier resto del producto que me impidan el desarrollo celular del esqueje o semilla utilizada (Castillo, 2014).

Tercera fase de propagación: Introducción de los explantes al medio

Luego de tener todo el material desinfectado y lavado se colocan en los recipientes con el medio de cultivo estéril donde pasaran por una semana o dos para después presencia el proceso de germinación o regeneración de nuevos tejidos, donde se iniciará el cultivo *in vitro* (Castillo, 2014).

Cuarta fase de propagación: Multiplicación de los brotes

Después de haber pasado las dos fases anteriores se originan los brotes con varias hojas, cada brote con presencia de una yema. Paso a paso estos nuevos brotes se deben

extraer y cultivar en un nuevo medio de cultivo con las mismas condiciones de asepsia y así empezar a aumentar el nuevo número de plantas denominadas clones (Castillo, 2014).

Quinta fase de propagación: Preparación del medio para enraizar los explantes

Para lograr que los esquejes con un tamaño de alrededor de 2 cm se puedan enraizar se tienen que llevar a un medio de cultivo donde solo se preparen con fitoregulador para este medio como son las auxinas el cual ayudara a crear nuevos brotes y el enraizamiento de igual manera (Castillo, 2014).

Sexta fase de propagación: Acondicionamiento en campo de los explantes

Los explantes propagados de esta manera son considerados muy débiles por lo cual es necesario brindarle las condiciones climáticas específicas donde puedan tolerar el cambio de sustrato y ambiente cada plántula extraída del medio de cultivo, se debe garantizar un contenido de humedad relativa muy alta lo cual asimila su crecimiento en medio *in vitro* facilitando la supervivencia de las mismas por ser plantas de laboratorio en condiciones diferentes al suelo normal de una planta (Castillo, 2014).

El Vivero

Es un sitio donde se sitúan todo el material de propagación de las plantas con fines comerciales e investigativos. Es un lugar adecuado para germinar y madurar variedades de plantas bajo condiciones agronómicas controladas dentro y fuera de los diferentes tipos de viveros que se encuentran en la región (Hernández, 2019).

Los viveros se pueden clasificar según su material vegetal de trabajo, estos son:

- Viveros forestales: solo se trabajan especies enfocadas en la reforestación de zonas tropicales con diferentes pisos térmicos (Hernández, 2019).
- Viveros frutales: se cultivan muchos cítricos y frutales de tipo permanentes (mango, aguacate) (Hernández, 2019).

- Viveros investigativos: se realizan ensayos con diferentes mecanismos de aplicación de la tecnología y demás alternativas investigativas (Hernández, 2019)

Métodos de desinfección

Esterilización es el proceso mediante el cual se alcanza la muerte de todas las formas de vida microbianas, incluyendo bacterias y sus formas esporuladas altamente resistentes, hongos y sus esporas, y virus. Se entiende por muerte, la pérdida irreversible de la capacidad reproductiva del microorganismo (Vignoli, 2006).

Desinfección en este proceso se eliminan los agentes patógenos reconocidos, pero no necesariamente todas las formas de vida microbianas.

Es un término relativo, donde existen diversos niveles de desinfección, desde una esterilización química, a una mínima reducción del número de microorganismos contaminantes. Estos procedimientos se aplican únicamente a objetos inanimados. (Vignoli, 2006).

Clasificación de los desinfectantes

Están clasificados en tres niveles según su grado de efectividad (alto, medio y bajo) y según su principio de actividad frente a bacterias y virus pueden ser lipídicos y no lipídicos (Vignoli, 2006). Se establecen tres categorías para los grupos de desinfectantes que se encuentran en el mercado.

Desinfectantes de alto nivel: se caracterizan por atacar esporas bacterianas no esporuladas, se utilizan sobre instrumentos quirúrgicos y de laboratorio (Vignoli, 2006), para este grupo se encuentran:

- Óxido de Etileno
- Formaldehído al 8% en alcohol 70%
- Glutaraldehído al 2%
- Peróxido de Hidrógeno

Para el siguiente grupo se encuentran los desinfectantes de mediano nivel no logran destruir esporas bacterianas, si inhiben el crecimiento de hongos y virus no lipídicos, estos en su mayoría son usados como desinfectantes y antisépticos (Vignoli, 2006):

- Compuestos clorados (por ej.: hipoclorito de sodio)
- Compuestos iodados (iodóforos y alcohol iodado)

- Compuestos fenólicos
- Alcoholes
- Clorhexidina

Para el último grupo de desinfectantes se encuentran los de bajo nivel que actúan en un tiempo razonable, no destruyen esporas ni *Mycobacterium* y tampoco virus no lipídicos, la utilización depende del objeto donde se trabaje y de la infección que este pueda ocasionar (Vignoli, 2006):

- Compuestos de Amonio cuaternario
- Compuestos mercuriales

5.2 Marco legal

Los procesos por lo cual se establece la producción de semillas y multiplicación de especies frutales y vegetales incluyendo todo el manejo que este conlleva se rige por la siguiente normatividad:

El Convenio sobre la Diversidad Biológica es el instrumento internacional para "la conservación de la diversidad biológica, la utilización sostenible de sus componentes y la participación justa y equitativa en los beneficios que se deriven de la utilización de los recursos genéticos", que ha sido ratificado por 196 países (Naciones unidas,1992).

La resolución 3180 del 2009 establece los requisitos y procedimientos necesarios para la distribución y producción del material vegetal de propagación en frutales para el área nacional con otras disposiciones (ICA, 2009).

Por medio de la ley 1518 del 2012 se aprueba el "Convenio Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales", del 2 de diciembre de 1961, revisado en Ginebra el 10 de noviembre de 1972, el 23 de octubre de 1978 y el 19 de marzo de 1991(Congreso de la República,2012)

Con el decreto 931 del 2018 se crea el Sistema de Trazabilidad Vegetal y se incluye como Título 11 de la Parte 13 del Libro 2 del Decreto 1071 de 2015, Único Reglamentario del Sector Administrativo Agropecuario, Pesquero y de Desarrollo Rural (Congreso de la República, 2018)

Por medio de la resolución 666 de 2020 se adopta el protocolo general de bioseguridad para mitigar, controlar y realizar el adecuado manejo de la pandemia del CORONAVIRUS COVID-19 (Min Salud, 2020).

Con la resolución 150 del 2003 Por se adopta el Reglamento Técnico de Fertilizantes y Acondicionadores de Suelos para Colombia (ICA, 2003).

Por medio de la resolución 68370 del 2020 se establecen los requisitos para el registro de productor, productor por contrato, envasador, importador y departamentos técnicos de ensayos de eficacia agronómica de Bioinsumos para uso agrícola; así como los requisitos para el registro de Bioinsumos para uso agrícola" (ICA, 2020).

Por medio de la resolución 780006 del 2020 se establecen los requisitos para el registro de viveros y/o huertos básicos dedicados a la producción y comercialización de material vegetal de propagación para la siembra en el país (ICA, 2020) también a través de

la resolución 3168 del 2015 se reglamenta y se controla la producción de semillas para mejoramiento genético, su comercialización y siembra para fines investigativos o agronómicos (ICA,2015).

La **NTC 5400 de 2005** de Buenas Prácticas Agrícolas para frutas, hierbas aromáticas culinarias y hortalizas frescas (ICONTEC, 2005) y la Resolución 4174 de 2009 por medio de la cual se reglamenta la certificación de buenas prácticas agrícolas en la producción primaria de fruta y vegetales para consumo en fresco (ICA, 2009).

Marco Normativo UCEVA: Resolución Rectoral No. 2269 del 11 de diciembre de 2018 Por la cual se establece la Política Ambiental para la Unidad Central del Valle del Cauca que busca promover el desarrollo de conciencia y cultura ambiental universitaria, generar estrategias de consumo responsable, ahorrar agua y energía, manejar adecuadamente los Recursos Naturales, Mejorar continuamente y cumplir con la normativa ambiental vigente aplicable a la institución. +

5.2 Marco conceptual

Los frutales en Colombia son de importancia económica ya que generan altos ingresos en el país. El cultivo de maracuyá considerado como uno de los más rentables dentro de los frutales presenta aspectos difíciles de manejar como el control de plagas y enfermedades, en el poder establecer plantas sanas. Estos trabajos se concretan en la aplicación de nuevas tecnologías con materiales genéticos en sus variedades y su cultivo en general (CENTA,2002).

El cultivo del maracuyá

La propagación de maracuyá a través de las semillas se ha estandarizado a nivel nacional a lo largo de los años y se han introducido al país variedades de biotipos que se adaptaron a los diferentes climas de territorio nacional (Cleves, 1990).

Por medio de las semillas se obtienen plantas de mejor características con un mayor crecimiento y un ciclo vegetativo más largo. Su siembra de las semillas después de la germinación se hace cuando la planta alcance los 40 cm de altura y emita el primer zarcillo como planta aérea (De Almeida, 1991). De esta manera es necesario reconocer que partes de la planta sirven para la propagación del maracuyá las cuales permitan una conservación de las características iniciales de la planta seleccionada para multiplicación.

El sistema de cultivo desde la siembra hasta su cosecha para la producción de este frutal va acompañado de un sistema de apoyo el cual se necesita para que la planta afirme su estructura de crecimiento, no importan las condiciones topográficas de la zona están se ayudan de un sistema de tutorado llamado espaldera, otorgando mayor producción en un cultivo tecnificado.

Dichas características van acompañadas con plan de manejo nutricional, con planes de mitigación y control de plagas y enfermedades los cuales son cruciales para garantizar altas producciones desde la primera cosecha. Es necesario ventilar la planta haciendo despuntes como primera poda para una mejor aireación y asimilación solar. No se debe

dejar de realizar controles mecánicos de malezas (ICA, 2011). Con el plan nutricional de elementos mayores y menores en este cultivo, el porte vitamínico necesario que siempre debe iniciar desde el análisis de suelo antes de la siembra y este garantiza en todo ciclo fenológico y productivo los nutrientes necesarios por extracción los cuales es recomendado aplicar cada dos meses (ICA, 2011), siendo eficientes en producción.

De las principales actividades a desarrollar en este tipo de cultivo las que van asociadas con el MIPE son tres pilares fundamentales: el primero se encarga de implementar practicas desde la compra o reproducción de la planta por medio de las semillas donde y se busca que se obtengan plantas de alta calidad y libres de patógenos en cualquier ambiente, adecuar la zona de establecimiento del cultivo con las practicas agronómicas requeridas para su sana propagación, segundo programar actividades de monitoreo, seguimiento y análisis de datos donde se identifican deficiencias por afectaciones relacionadas al ataque de plagas o sintomatología por enfermedades asociadas. Cada proceso realizado para la prevención de plagas y enfermedades va de la mano con un monitoreo o evaluación donde se tienen en cuenta todas las condiciones agronómicas del cultivo con su paquete tecnológico (ICA, 2011).

Cada proceso consiste en realizar protocolos de seguimiento en las plantaciones por medio de recorridos de análisis donde se evalúa un 10% de afectación en toda la planta cada una de sus partes hojas, tallos, flores y frutos. Es necesario evaluar los estados edafológicos de la planta raíces, suelo, humedad, aireación del suelo, poblaciones de malezas asociadas al cultivo, todo esto se registra para llevar control necesario del monitoreo (ICA, 2011).

Vivero para la planta de maracuyá.

Este lugar debe ser el sitio que garantice las calidades agronómicas que necesite la planta en todos sus procesos fisiológicos como las pasifloras, este también debe garantizar agronómicamente la facilidad para fertilizar, tutorar, regar, podar y aplicar diferentes

alternativas de control y mantenimiento para que la planta no pierda vigorosidad en su ciclo de producción. El vivero es un sitio donde se establece la germinación de semillas y plántulas con el fin de que crezcan, se puedan mantener, se puedan injertar, se puedan realizar investigaciones y se puedan comercializar en mejores condiciones que cuyas plantas están expuestas directamente a condiciones de campo abierto, todo esto va de la mano con el tipo de vivero que se tenga para las plantas. Un vivero es de vital importancia porque es la base de cualquier cultivo que se quiera trabajar de manera comercial, si tenemos un vivero de baja calidad todas las características importantes de un cultivo desde la siembra hasta la productividad se verán afectados (IICA, 2005), por tal motivo no tendremos los resultados que se deseen según el tipo de planta que trabajemos con fines investigativos o comerciales.

Desinfección del material vegetal asociado a la propagación de maracuyá.

Reconociendo las principales características de la propagación *in vitro* y la reproducción sexual de una planta se deben establecer protocolos que garanticen la inocuidad del material vegetal a trabajar. Las semillas y la parte de la planta seleccionada como los esquejes axilares representan el material más importante para esta fase de la conservación y multiplicación de plantas a través del proceso en almacigo y su proceso *in vitro*. Si bien la presencia y la persistencia de los patógenos que causan enfermedades transmitidas por los alimentos en las semillas no se conocen por completo, las semillas infestadas con patógenos son un posible riesgo para la inocuidad de los alimentos.

Se sabe que los patógenos vegetales transmitidos por las semillas pueden enfermar o matar las plantas, lo cual genera pérdidas de cultivos y de dinero. Los tratamientos de desinfección de semillas pueden utilizarse para prevenir enfermedades vegetales transmitidas por las semillas, especialmente aquellas causadas por bacterias, y pueden minimizar los posibles riesgos asociados con semillas contaminadas con patógenos transmitidos por los alimentos (Lewis, 2017). En el valle del Cauca el cultivo de maracuyá está siendo afectado por virus transmitidos por vectores que están presentes en otros

cultivos. Estos virus disminuyen la producción y calidad de la mayoría de plantaciones en la zona (Vaca-Vaca, 2016).

Existen diferentes métodos para reducir los patógenos y contaminantes asociadas al fruto y la planta en general, cada método que se utilice tiene sus ventajas y desventajas dependiendo del proceso y el producto que se utilice. Para los procesos físicos de control como los lavados y limpiezas, para el control térmico se utilizan aumentos de las temperaturas y para los procesos químicos de control existe el uso de agentes desinfectantes en soluciones líquidas y gaseosas (Garmendia y Vero, 2015).

6. Metodología

Esta investigación se realizó en la Granja Agrostológica de tres esquinas de la Unidad Central del Valle del Cauca (UCEVA) que está ubicada en el corregimiento de tres esquinas, municipio de Tuluá Valle del Cauca. Para este ensayo se realizaron actividades previas de adecuación y limpieza para el laboratorio y el vivero donde se realizó el ensayo.

La primera actividad consistió en la limpieza y construcción de un invernadero de 16 m² de área con una malla antitrips en la granja. En la segunda actividad previa se realizó la limpieza del área del laboratorio de ciencias biológicas y la cámara de crecimiento *invitro* que allí se encuentra. Estas actividades se observan en la figura 8 y 9.

Figura 8

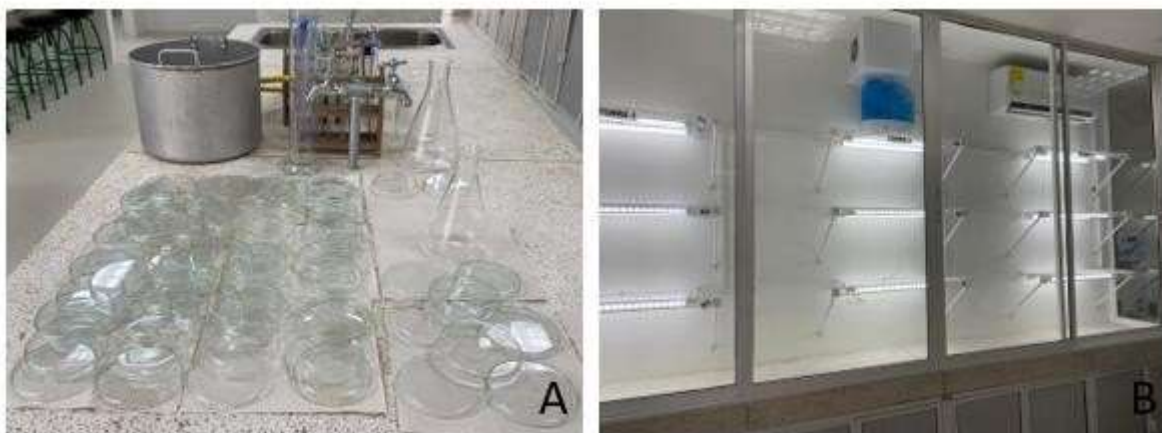
Adecuación del vivero



Nota. A. Ubicación del vivero en la granja. B. Limpieza del suelo. C. Adecuación inicial del área de vivero. D. Adecuación final del vivero con malla. Fuente: Elaboración propia, 2021.

Figura 9

Limpieza del laboratorio y equipos



Nota. A. Limpieza de instrumentos de laboratorio y área de trabajo. B. Desinfección y limpieza de cámara de crecimiento *in vitro* Fuente: elaboración propia, 2021.

Luego de haber acondicionado las instalaciones de la granja y el laboratorio de ciencias biológicas de la ciudadela universitaria, se ejecuta el ensayo de investigación dividido en 4 fases con las etapas correspondientes para cada fase.

PRIMERA FASE: OBTENCIÓN DE PLANTAS MADRES

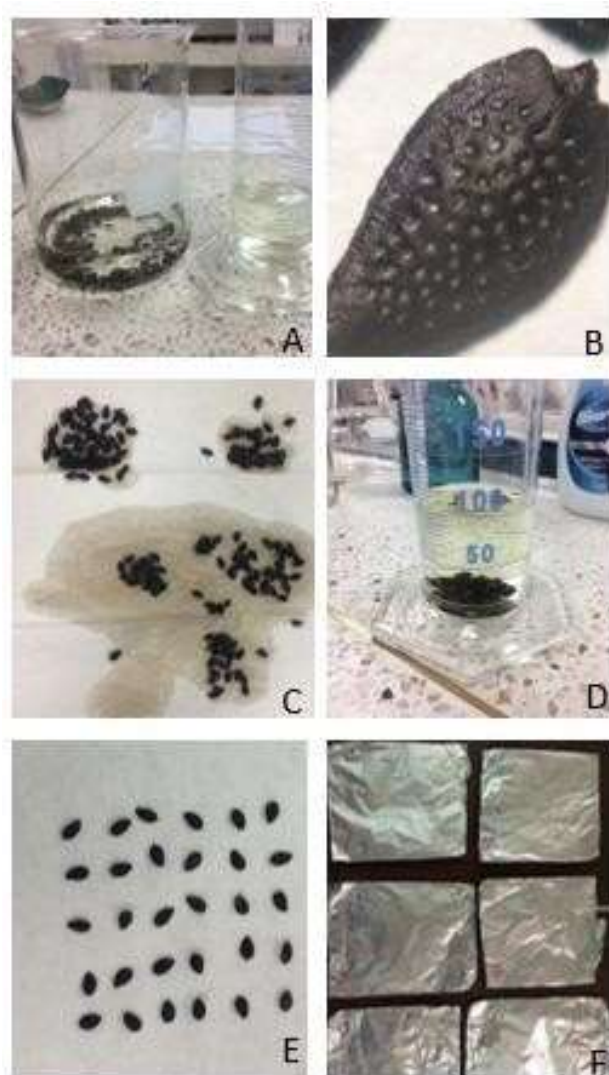
Para este primer ensayo se tuvieron en cuenta tres etapas: en la primera lavado, selección y desinfección de semillas de mejor calidad en tamaño y estructura, en la segunda, establecimiento en bandeja de germinación y evaluación de crecimiento, y en la tercera, selección de plantas con características fisiológicas de buena calidad.

Primera etapa: Se realizó un lavado a 150 semillas con agua destilada para retirar restos de mucilago y cualquier suciedad, se hace la selección revisando que no se presenten malformaciones fenotípicas, no exista algún daño en ellas y presente buen tamaño; estas se desinfectaron con 500ml hipoclorito de sodio al 2% por 5 minutos y lavadas por último con agua destilada estéril. Estas semillas se guardaron tres días evitando la luz y acelerar su proceso germinativo. En la figura 10 se observa la primera etapa. Adicionalmente se diseñó el mismo procedimiento de desinfección utilizando semillas

certificadas obtenidas de la casa comercial Anasac teniendo en cuenta el mismo tamaño muestral de las semillas 150 obtenidas directamente del fruto.

Figura 10

Desinfección de semillas comerciales y convencionales



Nota. A. Semillas en agua destilada y NaClO al 2%. B. Semilla de buena calidad. C. Selección de semillas de mejor calidad. D. Desinfección con NaClO al 2% por 5 minutos. E. Secado de semillas. F. Empaque de semillas comerciales y convencionales. Fuente: Elaboración propia,2021.

Segunda etapa: Se prepararon 100kg de sustrato con suelo orgánico y con una adición de productos comerciales como Safer Soil WP (125 gr) y un complejo 125gr de macronutrientes asimilables para las plantas llamado triple 16, (N, P, K) de la casa comercial Cenagro el cual contiene una proporción de nitrógeno, fósforo y potasio al 16% cada uno. Este sustrato tuvo volteos manuales cada 48 horas con riego cada vez que se volteó para garantizar humedad y que se mantuviera su punto óptimo de humedad adecuada a capacidad de campo, logrando su homogenización necesaria para la siembra de semillas y esquejes. Se trabajó con una bandeja de 128 alveolos de capacidad de germinación donde se colocó una semilla por cavidad, se les monitoreó su adecuado desarrollo en tallo y formación de hojas y se les evaluó su porcentaje de germinación teniendo en cuenta la formación del hipocotilo. Para este experimento solo se utilizaron 128 semillas por el tamaño de las bandejas utilizadas. Esta etapa se muestra en la figura 11.

Figura 11

Sustrato y germinación de semillas



Nota. A. Preparación de sustrato en bandeja de germinación. B. Producto biológico a base de hongos entomopatógenos y fertilizante triple 16. C. Desarrollo germinativo de semillas. D. Desarrollo de cotiledones y hojas verdaderas. Fuente: Elaboración propia, 2021.

Tercera etapa: en el primer periodo de desarrollo y crecimiento fisiológico de la planta de maracuyá se seleccionaron las plántulas que presentaron un adecuado alargamiento del tallo al igual que aquellas que no presentaban daños por patologías asociadas al cultivo y plagas que dañaran el tejido foliar. Estas características son primordiales para garantizar vigorosidad en el esqueje o yema axilar de la planta.

Dentro de este ensayo se contempló la compra de plantas sanas de un vivero certificado ubicado en el Municipio de La Unión, Valle del Cauca que sirviera como colección de soporte para mantener un adecuado número de material vegetal como reservorio para las actividades experimentales. El desarrollo de las plántulas de objetivo madre se observa en la figura 12.

Figura 12

Plántulas para selección de plantas madre



Nota. A. Desarrollo inicial de plántulas. B. Desarrollo foliar y alargamiento del tallo. C. Plantas adultas para selección. D. Plántulas de vivero comercial certificado.

Fuente: Elaboración propia, 2021.

SEGUNDA FASE: ELABORACIÓN DE PROTOCOLOS DE DESINFECCIÓN

Primera etapa: Para la desinfección de las yemas axilares y semillas se prepararon varias soluciones con concentraciones (v/v) a diferentes porcentajes de soluciones desinfectantes que fueron hipoclorito de sodio (NaCl) y yodo (I) disueltos en agua destilada. Para determinar la cantidad de volumen de cada una de las soluciones se utilizó la siguiente fórmula:

$$C_i * V_i = C_f * V_f$$

Para ajustar la concentración del desinfectante que se utilizó en el ensayo se despejó el volumen inicial (V_i) por que la concentración del cloro y del yodo en la solución comercial tiene una concentración alta lo cual no permite la semilla y el esqueje se desarrolle en buenas condiciones. En al siguiente fórmula se despeja el V_i :

$$V_i = \frac{C_f * V_f}{C_i}$$

Donde,

C_i : concentración inicial del desinfectante

C_f : concentración final de la solución

V_i : volumen inicial necesario para despejar y reducir la concentración del desinfectante.

V_f : volumen de la solución final

Después de tener despejado el volumen inicial donde se comprobó la cantidad necesaria para cada tratamiento de 80 ml (v/v), se obtuvieron los datos requeridos para la representación de los tratamientos para las semillas y los esquejes.

Se diseñaron dos tratamientos cada uno con dos diferentes grados de concentraciones donde se analizó el porcentaje de semillas y esquejes contaminados por patógenos en el medio de cultivo a causa de diversos factores ambientales. El primer

tratamiento se preparó con hipoclorito de sodio en concentraciones al 3% y al 5%, el segundo se hizo con yodo al 3% y al 5%, y el último un testigo solo con agua destilada sin ninguna adición de desinfectante. Para el proceso de desinfección del material vegetal del ensayo se realizó una inmersión en el desinfectante por 5 minutos. Los tratamientos se observan en la siguiente tabla:

Tabla 2

Protocolos de desinfección

Tratamiento 1 Hipoclorito de sodio (NaClO)	Tratamiento 2 Yodo (I)	Testigo (Agua destilada)
3%	3%	0
5%	5%	0

Nota. Todos los grupos se expusieron a un tiempo de 5 minutos de inmersión por cada tratamiento. Los grupos se muestran en la siguiente tabla.

Se establecieron 4 grupos de experimentación para cada elemento vegetal de investigación, se hicieron dos grupos para las semillas *in vitro* y en vivero; dos grupos para los esquejes *in vitro* y en vivero, los grupos se observan en la siguiente tabla:

Tabla 3

Grupos de experimentación

Grupos	Elementos
1	Semillas <i>in vitro</i>
2	Semillas vivero
3	Esquejes <i>in vitro</i>
4	Esquejes vivero

Nota. Se diseñaron 4 grupos de ensayo cada uno con un tamaño de 50 individuos, haciendo las comparaciones entre semillas y esquejes.

Segunda etapa: Después de haber realizado las formulaciones para determinar la cantidad de desinfectante que se utilizó y establecer los tratamientos para cada grupo correspondiente, se procedió a determinar el tamaño muestral del ensayo en los 4 grupos de experimentación. El tamaño del ensayo en total fueron 200 muestras divididas en 4 grupos de 50 unidades, cada grupo se dividió de la siguiente manera:

Semillas *in vitro*: Grupo 1 de 50 semillas, divididas en dos grupos de 20 muestras, un grupo con el tratamiento 1, otro grupo de 20 muestras con el tratamiento 2 y un testigo de 10 semillas tabla 4.

Semillas vivero: Grupo 2 de 50 semillas, divididas en dos grupos de 20 muestras, un grupo con el tratamiento 1, otro grupo con el tratamiento 2 y un testigo de 10 semillas en la tabla 5.

Esquejes *in vitro*: Grupo 3 de 50 esquejes, divididos en dos grupos de 20 muestras, un grupo con el tratamiento 1, otro grupo con el tratamiento 2 y un testigo de 10 esquejes tabla 6.

Esquejes vivero: Grupo 4 de 50 esquejes, divididos en dos grupos de 20 muestras, un grupo con el tratamiento 1, otro grupo con el tratamiento 2 y un testigo de 10 esquejes tabla 7.

Selección de esquejes

Esta selección se llevó cabo mediante la evaluación de las plantas madres con mejores características las cuales sirvieron de material para la extracción de las yemas que se utilizaron para evaluar la eficacia de los protocolos. Se cortaron tallos con más brotes de yemas y se llevaron laboratorio para un lavado y su posterior proceso de desinfección con los dos tratamientos con cada concentración como se plantea en la tabla 2.

Tabla 4*Semillas in vitro*

Grupo 1 Tratamiento 1		Grupo 1 Tratamiento 2		Testigo
NaClO 3%	NaClO 5%	I 3%	I 5%	Agua destilada
R1	R11	R21	R31	R41
R2	R12	R22	R32	R42
R3	R13	R23	R33	R43
R4	R14	R24	R34	R44
R5	R15	R25	R35	R45
R6	R16	R26	R36	R46
R7	R17	R27	R37	R47
R8	R18	R28	R38	R48
R9	R19	R29	R39	R49
R10	R20	R30	R40	R50

Nota: Estructura de análisis del grupo 1 con 10 semillas por

tratamiento para un total de 50 semillas incluido el testigo *in vitro*. Fuente:

Elaboración propia 2021

Tabla 5*Semillas vivero*

Grupo 2 Tratamiento 1		Grupo 2 Tratamiento 2		Testigo
NaClO 3%	NaClO 5%	I 3%	I 5%	Agua destilada
R1	R11	R21	R31	R41
R2	R12	R22	R32	R42
R3	R13	R23	R33	R43
R4	R14	R24	R34	R44
R5	R15	R25	R35	R45
R6	R16	R26	R36	R46
R7	R17	R27	R37	R47
R8	R18	R28	R38	R48
R9	R19	R29	R39	R49
R10	R20	R30	R40	R50

Nota. Estructura de análisis del grupo 2 con 10 semillas por

tratamiento para un total de 50 semillas incluido el testigo en vivero. Fuente:

Elaboración propia 2021

Tabla 6*Esquejes in vitro*

Grupo 3 Tratamiento 1		Grupo 3 Tratamiento 2		Testigo
NaClO 3%	NaClO 5%	I 3%	I 5%	Agua destilada
R1	R11	R21	R31	R41
R2	R12	R22	R32	R42
R3	R13	R23	R33	R43
R4	R14	R24	R34	R44
R5	R15	R25	R35	R45
R6	R16	R26	R36	R46
R7	R17	R27	R37	R47
R8	R18	R28	R38	R48
R9	R19	R29	R39	R49
R10	R20	R30	R40	R50

Nota. Estructura de análisis del grupo 3 con 10 esquejes por tratamientos para un total de 50 esquejes incluidos el testigo *in vitro*.

Elaboración propia 2021.

Tabla 7*Esquejes vivero*

Grupo 4 Tratamiento 1		Grupo 4 Tratamiento 2		Testigo
NaClO 3%	NaClO 5%	I 3%	I 5%	Agua destilada
R1	R11	R21	R31	R41
R2	R12	R22	R32	R42
R3	R13	R23	R33	R43
R4	R14	R24	R34	R44
R5	R15	R25	R35	R45
R6	R16	R26	R36	R46
R7	R17	R27	R37	R47
R8	R18	R28	R38	R48
R9	R19	R29	R39	R49
R10	R20	R30	R40	R50

Nota. Estructura de análisis del grupo 4 con 10 esquejes por tratamiento para un total de 50 esquejes incluidos el testigo en vivero.

Fuente: Elaboración propia 2021.

TERCERA FASE: ELABORACIÓN DE MEDIO CULTIVO MS (MURASHIGE AND SKOOG, 1962).

Etapa I: Para la preparación del medio de cultivo que se utilizó para la propagación de semillas y esquejes en *in vitro* se preparó 1000 ml de medio basal MS con los siguientes componentes:

Phytigel: 2.6 gr/L

Sacarosa: 30 gr/L

Medio MS: 4.4 gr/L

Fungicida: 0.5 ml de antimicótico comercial Micosan ANEXO 1

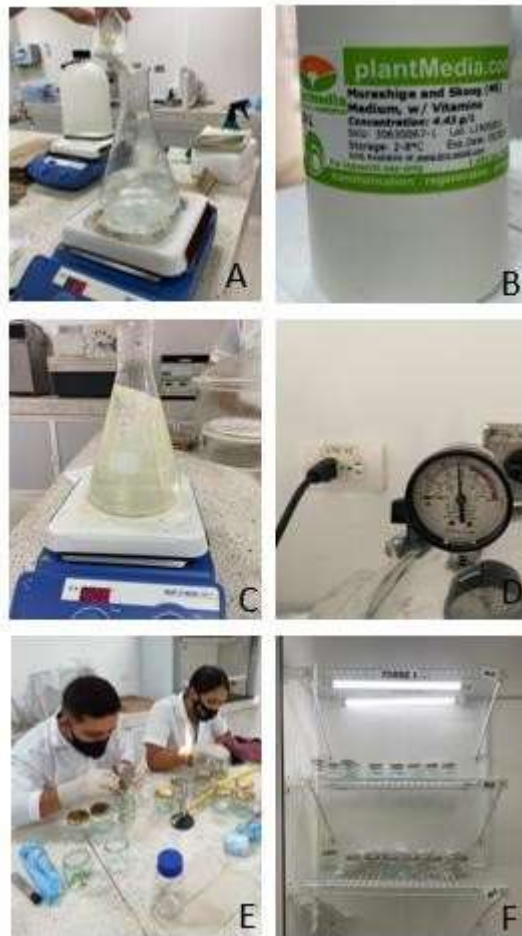
Bactericida: 1mg de cefalexina genérica.

El medio que se utilizó para la propagación ver ficha técnica ANEXO 2 en su composición trae macro y micro nutrientes necesarios para el crecimiento radicular y apical de cualquier planta que se trabaje *in vitro*, también tiene vitaminas nombradas por (Gamborg et al., 1968) lo cual contribuye al crecimiento de las plantas en un medio antrópico.

Preparación: Se utilizó una plancha de calentamiento con agitador magnético con control de revolución donde se colocó sobre ella un Erlenmeyer de capacidad de 1000 ml, se adiciono 500 ml de agua destilada estéril, se agregó 30g se sacarosa, 2.6g de phytigel 4.4 g de medio MS con calentamiento constante hasta que estuvieran diluidos los componentes. Luego de tener el medio preparado se llevó a la autoclave y se esterilizo por 20 minutos a 20psi de presión = 121°C, se dejó reposar a temperatura ambiente y se sirvió en vasos de conserva de capacidad de 230 ml donde solo se le adiciono de medio de cultivo 20 ml por recipiente para su crecimiento en cámara de crecimiento de tejidos vegetales. Las imágenes del procedimiento se observan en la figura 13.

Figura 13

Preparación del medio de cultivo



Nota. A. Adición de complementos para el medio de cultivo. B. Medio Murashige and Skoog, 1962 de la casa comercial Plantmedia. C. Homogenización del medio de cultivo. D. Medición de la presión en la autoclave. E. Vertimiento del medio en los frascos de vidrio. F. Frascos de vidrio en niveles de cámara de crecimiento. Fuente: Elaboración propia, 2021

Después de haber realizado los tratamientos para cada grupo experimental del ensayo, se seleccionaron los grupos de semillas y esquejes *in vitro* para ser servidos en sus recipientes de crecimiento (vasos de vidrio de 230ml y bandeja de germinación de 60 alveolos).

Etapla II: Se hizo el diseño de agrupación de los esquejes y las semillas para germinación en vivero e *invitro* del ensayo, los frascos de vidrio con 20 ml de medio y las bandejas de germinación de capacidad de 60 alveolos., distribuyendo todo de la siguiente manera:

Distribución de semillas en el medio de cultivo: Todas las semillas fueron servidas en grupos de 5 semillas por cada recipiente con medio de cultivo, como se observa en la figura 14.

Distribución de esquejes en el medio de cultivo: Todos los esquejes fueron servidos en grupos de 5 por cada recipiente con medio de cultivo, como se observa en la figura 14.

Distribución de semillas en bandeja para germinación en vivero: Todas las semillas de este grupo se sembraron de en grupos de 10, una semilla por alveolo.

Distribución de esquejes en bandeja para germinación en vivero: Todos los esquejes se sembraron en grupos de 10, un esqueje por alveolo.

Figura 14

Semillas y esquejes en recipientes de ensayo



Nota. A. Semillas en frasco de vidrio. B. Semillas en bandeja de germinación. C. Esquejes para frascos de vidrio. D. Esquejes en bandeja de germinación. Fuente: Elaboración propia,2021.

CUARTA FASE: MANEJO DE CÁMARA DE CRECIMIENTO *IN VITRO* Y VIVERO

Con las semillas y esquejes puestos en la cámara de crecimiento se realizó el seguimiento y se hicieron labores de monitoreo para cada uno de los dos sistemas de propagación utilizados.

Cámara de crecimiento *in vitro*: Para esta etapa se procedió a controlar y vigilar los parámetros de crecimiento que se establecieron en la cámara y en el vivero. Para la cámara de crecimiento se dispuso una temperatura de 26°C y una humedad relativa de 70% en toda la cámara, los vasos de vidrio utilizados para los esquejes estaban completamente sellados y con exposición total de luz artificial de la cámara. Para la germinación de las semillas en los vasos de vidrio estos se cubrieron con papel aluminio guardando cualquier exposición a la luz. Este procedimiento se ve en la figura 15.

Vivero: Para esta etapa realizada en campo se llevaron las bandejas con las semillas y esquejes ya puestas en el sustrato utilizado para la propagación de plantas madre donde se controló la humedad del sustrato y el control de patógenos asociados por medio de aplicaciones de hongos entomopatogenos. Este proceso se observa en la figura 15.

Figura 15

Cámara de crecimiento in vitro y vivero de la granja



Nota. A. Manejo de cámara de crecimiento y control de variables para las semillas y esquejes. B. Control de riego y manejo de variables en el vivero para semillas y esquejes.

Fuente: Elaboración propia, 2021.

6.1 Diseño experimental

El experimento se dividió en 2 fases. Inicialmente 1 primer ensayo que se estableció bajo un diseño completamente al azar en donde los tratamientos establecidos fueron la desinfección de semillas origen comercial y aquellas de origen convencional. Las variables evaluadas fueron el % de germinación, supervivencia y viabilidad comparadas entre sí por medio del agrupamiento de Duncan. Se llevaron a cabo 3 réplicas por cada tratamiento.

Y finalmente se estableció otro experimento con el objetivo de evaluar el efecto de los protocolos de desinfección en función de su concentración. Para este ensayo se llevó a cabo un análisis de frecuencias.

7. Resultados y discusión

7.1 Obtención de plantas madre de *Passiflora edulis* en almácigo para su posterior utilización en los protocolos de desinfección *in vitro* y en vivero.

Se realizó el proceso de selección y desinfección de semillas convencionales extraídas de frutas de buena calidad de un cultivo certificado a las cuales se les realizó el proceso de selección convencional por el método tradicional en agua para la semilla sumergida en la base del recipiente y su desinfección de hipoclorito al 2% de concentración (v/v) con agua destilada.

Tabla 8

Germinación y selección de plantas madres

Ítem	Convencional	R1	R2	R3	%	Comercial	R1	R2	R3	%
Semillas	128	43	43	42	100	128	45	41	42	100
Germinación	111	37	38	36	86,7	118	44	35	39	92
Supervivencia	67	24	21	22	52,3	85	28	27	30	66,4
Viabilidad para selección	65	23	21	21	50,7	80	26	25	29	62,5

Nota: Tabla con los resultados de las réplicas de la selección de plantas madres.

Fuente: Elaboración propia, 2021.

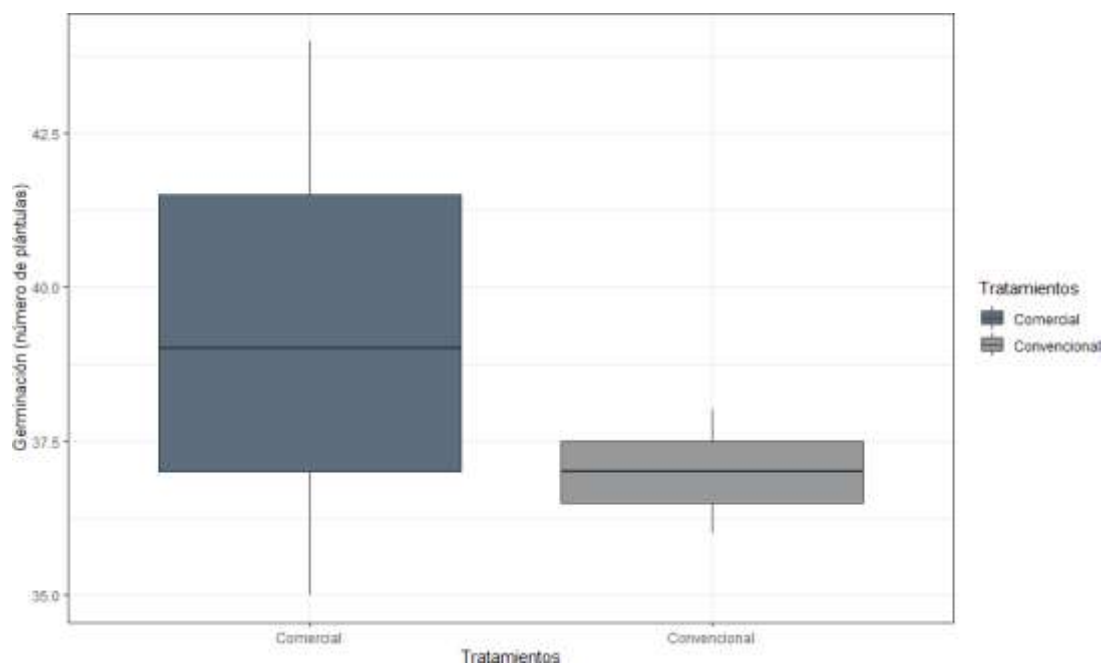
Los resultados de germinación para las semillas convencionales fueron del 86.7 % respecto a las semillas comerciales que fueron del 92%; esto quiere decir que el proceso realizado en esta investigación con las convencionales es satisfactorio ya que se hicieron prácticas de selección tradicionales realizadas por agricultores de maracuyá esto refleja la importancia de la desinfección y manejo adecuado en la semilla.

Algunos investigadores mencionan que las semillas con o sin el arilo, pueden ponerse a germinar inmediatamente después de ser extraídas del fruto, aunque la remoción de la pulpa acelera la germinación.

Mediante la propagación por semilla se obtienen plantas vigorosas, de mayor crecimiento y con un ciclo de vida más largo que el obtenido por esqueje (De Almeida, 1991), adicionalmente las plantas producidas por medio de semillas son más vigorosas. (García; 2010), lo cual indica que se realizó una selección adecuada en la utilización de las semillas tanto comerciales como las extraídas del fruto.

Figura 16

Diagrama de cajas para Germinación



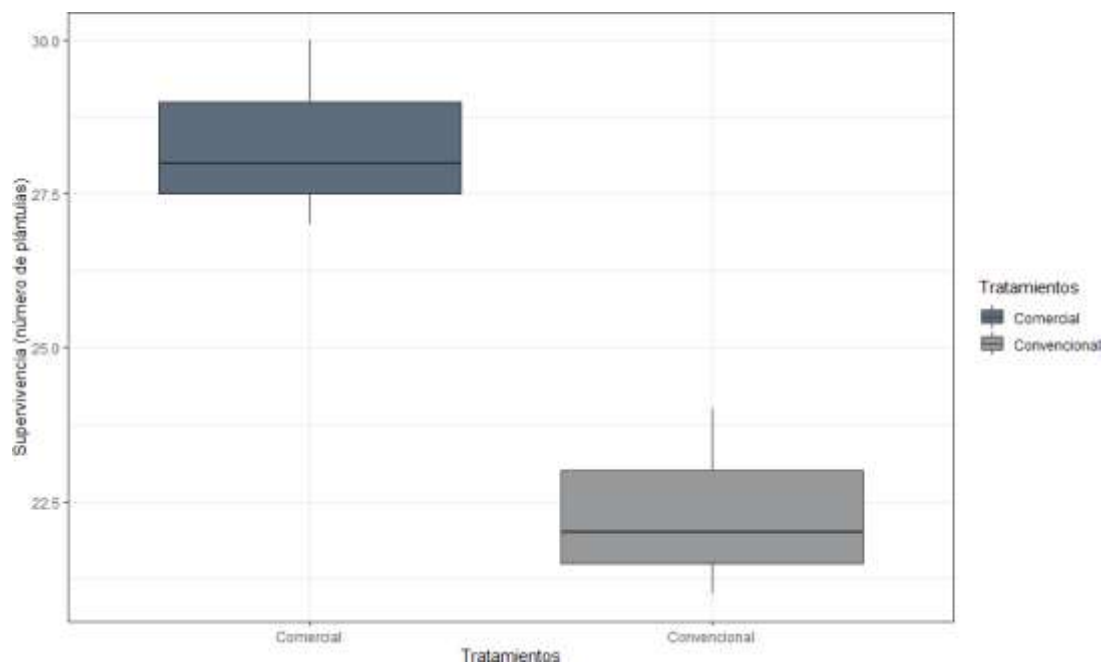
Nota. Se observa el comportamiento de la dispersión de las semillas comerciales para cada replica. Fuente: Elaboración propia, 2021.

Los resultados de germinación para el proceso de producción de plantas madres con las semillas convencionales no presentó dispersión en los datos ya que todas las repeticiones mostraron el mismo comportamiento como se observa en la figura 16. Para las semillas comerciales se presentó una mayor dispersión en los resultados de germinación

logrando comportamientos diferentes a las semillas convencionales, pero con un mayor índice de germinación como se observa en la figura 16.

Figura 17

Diagrama de cajas para Supervivencia

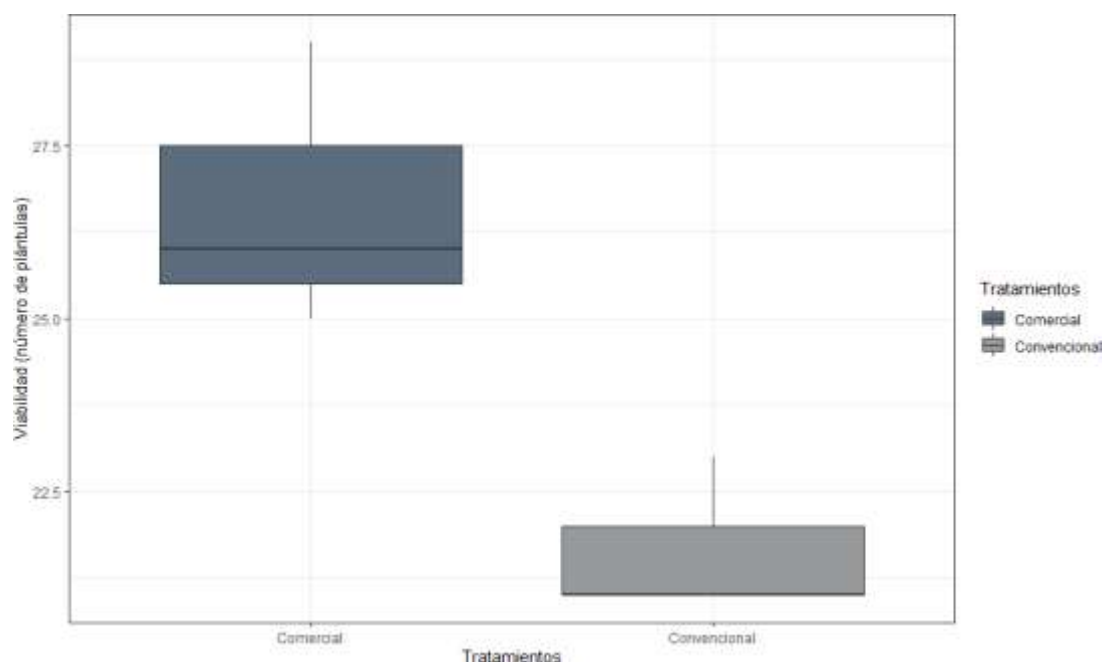


Nota. Se observa la baja dispersión presentada en las réplicas para los dos tipos de semillas. Fuente: Elaboración propia, 2021.

Dentro de los resultados obtenidos y como se observa en la figura 17 con las semillas sembradas en la germinación estas presentaron un desarrollo fisiológico óptimo del tallo y sus hojas primarias, las plántulas de maracuyá tanto para el ensayo de semilla comercial como para el convencional, no mostraron una dispersión mayor en ambas calidades para su comportamiento de supervivencia manteniendo un crecimiento adecuado sin afectaciones fisiológicas ya que se mantuvieron con el riego constante y la aplicación de productos biológicos para el control de plagas y enfermedades que posiblemente pudieran afectar el tallo. Se hizo la comparación entre los dos resultados donde las semillas certificadas de origen comercial mostraron un mayor índice de supervivencia, la cual se mantuvo por encima del rango del parámetro de germinación.

Figura 18

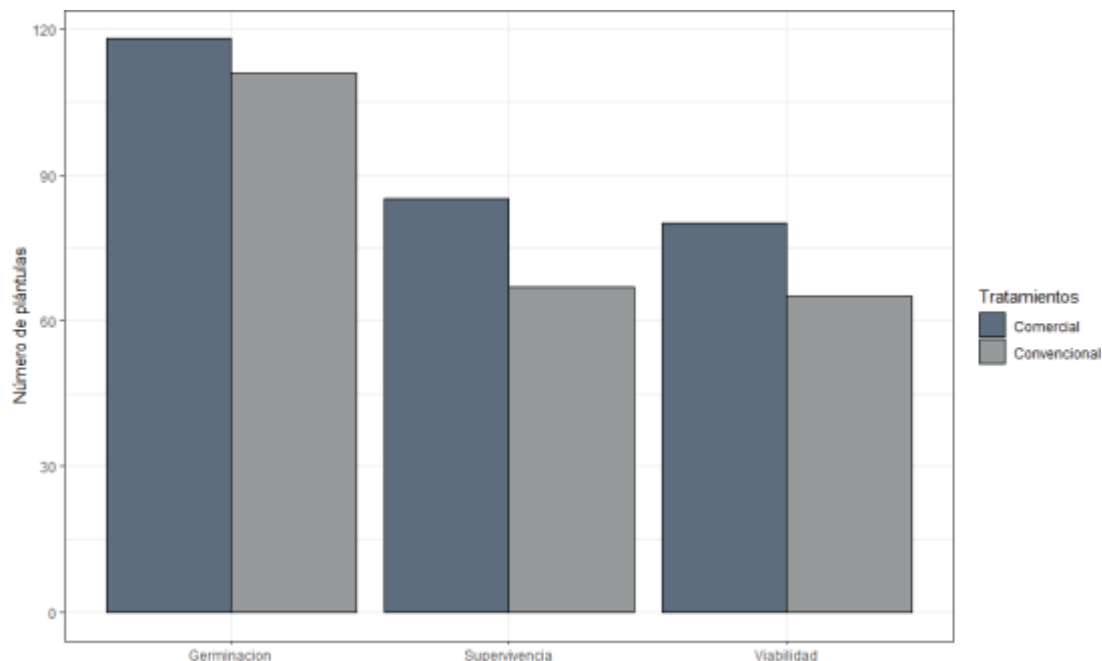
Diagrama de cajas para Viabilidad



Nota. Se observa el descenso en la dispersión de las réplicas para la supervivencia de semillas comerciales. Fuente: Elaboración propia, 2021.

Dentro del análisis presentado para los dos variables anteriores en la selección de plantas madres, esta última etapa de crecimiento y desarrollo en cada planta en almácigo donde se establecieron y seleccionaron las mejores características de cada una (tallos sanos,), presentaron los siguientes resultados: las semillas convencionales con calidades muy bajas el cual derivó en un desnivel negativo de las plantas extraídas de semillas convencionales para la selección con total de 65 plantas, las comerciales se mantuvieron en un rango optimo donde no bajaron su comportamiento como mostraron las dos variables anteriores con un total de 80 plantas.

Las semillas comerciales con mejores resultados resaltan el valor del proceso comercial a gran escala, pero con pequeñas diferencias en un proceso convencional de extracción de semillas del fruto por parte del agricultor produciendo plantas de buena calidad.

Figura 19*Análisis acumulado de las variables*

Nota. Comportamiento presentado en las variables evaluadas para cada tipo de semilla. Fuente: Elaboración propia, 2021.

Para el análisis acumulado de los variables evaluadas en el proceso de selección plantas madres se observa las diferencias para cada uno de los comportamientos desde la siembra de la semilla comercial y convencional donde se hace dos énfasis. Primero la variable germinación muestra un comportamiento similar en las dos calidades de semillas evaluadas con una diferencia mínima de la comercial de número semillas germinadas sobre las convencionales (118 a 111), el segundo énfasis se hace en las dos variables restantes analizadas.

La supervivencia mostró un comportamiento con mayor diferencia sobre los resultados comparados, siendo la semilla comercial la que represento mayor supervivencia de número de plantas sobre las convencionales (85 a 67); la viabilidad para la selección de plantas madres mostro igual una mayor diferencia en el número de plantas de semillas

comerciales sobre las convencionales (80 a 65). Se puede definir que sobre el análisis acumulado de todas las variables para selección de plantas madres las semillas de origen comercial presentan ventaja en los resultados debido a que desde mediados del siglo veinte dos hechos impactaron decisivamente en la producción y comercialización de semillas: la aparición de las semillas híbridas, y la expansión de las biotecnologías aplicadas al agro, que condujo a un salto en la privatización del conocimiento. Por otro lado, las semillas adquirieron así un interés estratégico en el desarrollo de la agricultura global (Perelmuter, 2018) y para las convencionales la similitud que logran alcanzar en la germinación se pierde en los procesos siguientes para la selección de plantas sanas con características óptimas para plantas de alta calidad para un sistema de propagación *invitro*.

7.1.1 Análisis de Varianza

Se llevó a cabo un análisis de varianza bajo un modelo estadístico completamente al azar en donde la variable independiente correspondió a los tratamientos (comercial y convencional) y la variable dependiente correspondió a las variables Germinación, Supervivencia y Viabilidad, analizadas en el vivero de la granja. Para un análisis de diferencias significativas en la dispersión de los datos se analizaron cada una de las variables anteriores mencionadas.

Los datos fueron analizados con el software estadístico R version 4.1.3 "One Push-Up" con las librerías emmeans para el ajuste de los modelos y ggplot2 para la visualización de los datos.

Análisis para Germinación

A continuación, se evidencia que no existen diferencias estadísticas significativas entre los dos tratamientos para la variable germinación (p valor > 0.05)

Tabla 9

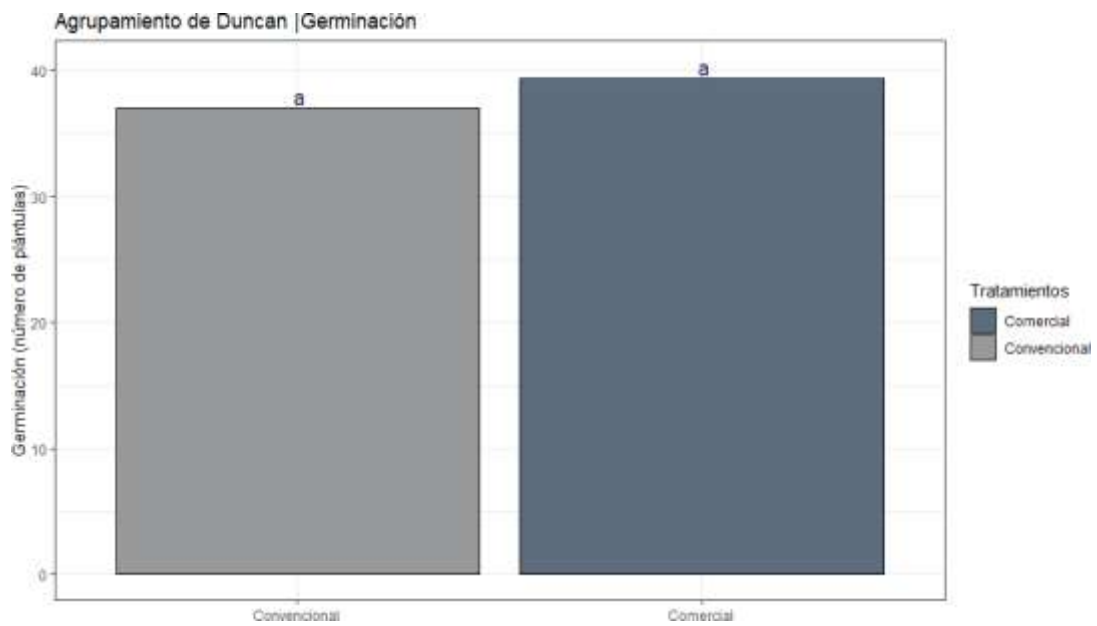
Análisis de varianza para germinación

Fuentes de variación	Grados de libertad	Sumas de cuadrados	Cuadrados medios	F calculado	Pr(>F)
Tratamientos	1	8.167	8.167	0.765	0.431
Error	4	42.667	10.666		

Nota. Se muestra el análisis que representa que no existe diferencia significativa. Fuente: elaboración propia, 2021.

Figura 20

Representación gráfica de la prueba de Tukey para germinación



Nota. Promedios con letras iguales no son significativamente diferentes de acuerdo a la prueba de Tukey. Fuente: Elaboración propia, 2021.

Análisis para supervivencia

A continuación, se evidencia que si existen diferencias estadísticas significativas entre los dos tratamientos para la variable supervivencia (p valor < 0.05). Estos resultados de supervivencia se definieron por medio de la cantidad de plantas en almácigo que sobrevivieron después de dos meses de evaluación.

Tabla 10

Análisis de varianza para supervivencia

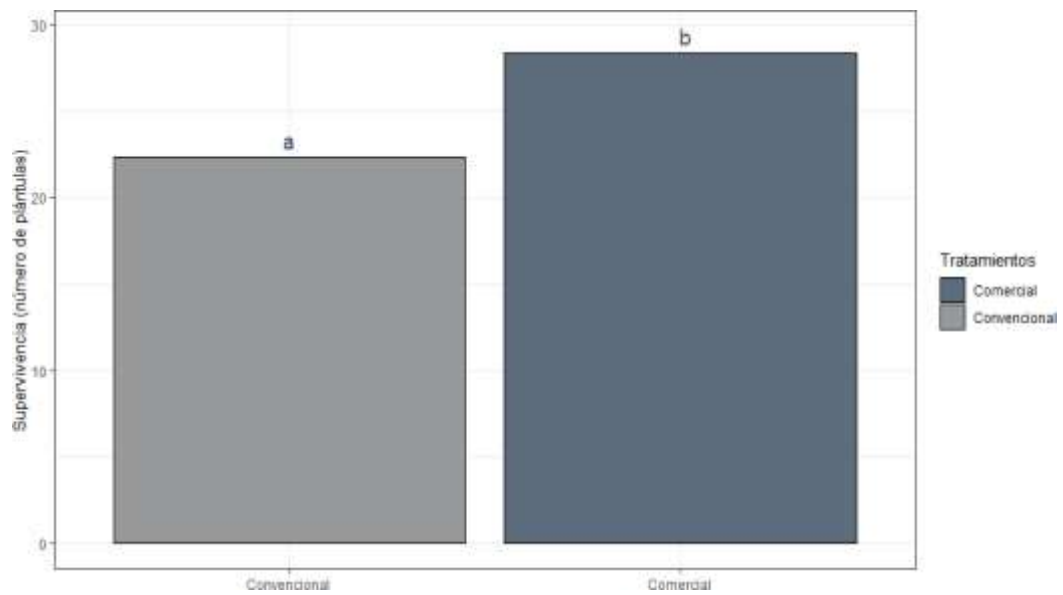
Fuentes de variación	Grados de libertad	Sumas de cuadrados	Cuadrados medios	F calculado	Pr(>F)
Tratamientos	1	54	54	23.143	0.00858
Error	4	9.33	2.333		

Nota. Se muestra el análisis que representa la existencia diferencia significativa en cuanto a la supervivencia de las plántulas a los 60 días.

Fuente: Elaboración propia, 2021.

Figura 21

Representación gráfica de la prueba de Tukey para supervivencia



Nota. Promedio con letras a y b que son significativamente diferentes de acuerdo a la prueba de Tukey. Fuente: Elaboración propia, 2021.

Análisis para viabilidad

A continuación, se evidencia que si existen diferencias estadísticas significativas entre los dos tratamientos para la variable viabilidad (p valor < 0.05), lo cual el resultado para esta variable dependió del análisis de cada planta que se seleccionó para ser madre con las siguientes características cualitativas de la calidad de la planta: inocuidad en todas las partes de la planta, libre de patógenos sin daños físicos ocasionados por alguna plaga asociada, vigor en la planta tallo grueso, hojas sanas y la planta de maracuyá que presentara mayor altura y formación de zarcillos.

Tabla 11

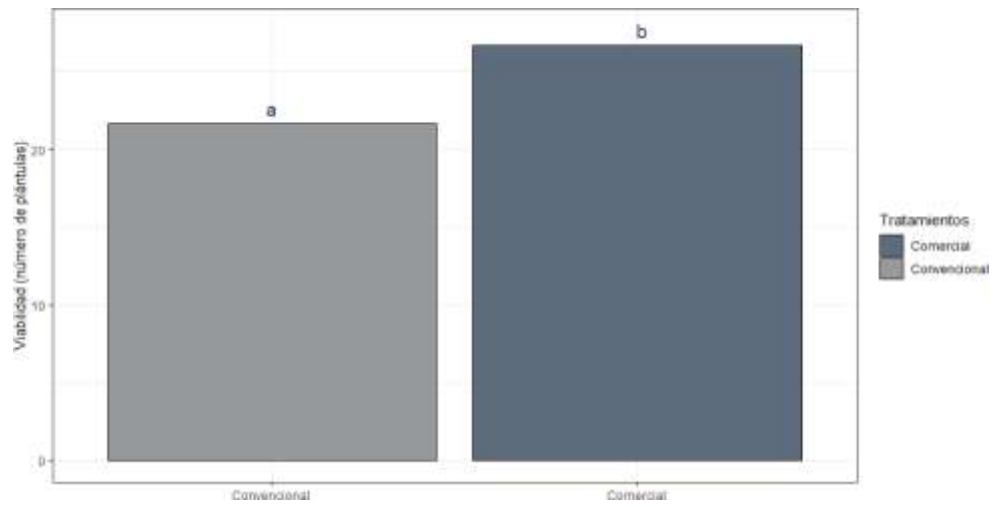
Análisis de varianza para viabilidad

Fuentes de variación	Grados de libertad	Sumas de cuadrados	Cuadrados medios	F calculado	Pr(>F)
Tratamientos	1	37.5	37.5	13.235	0.022
Error	4	11.333	2.833		

Nota. Se muestra el análisis que representa la existencia diferencia significativa por medio del análisis de la calidad de la planta, 2021. Fuente: elaboración propia, 2021.

Figura 22

Representación gráfica de la prueba de Tukey para viabilidad



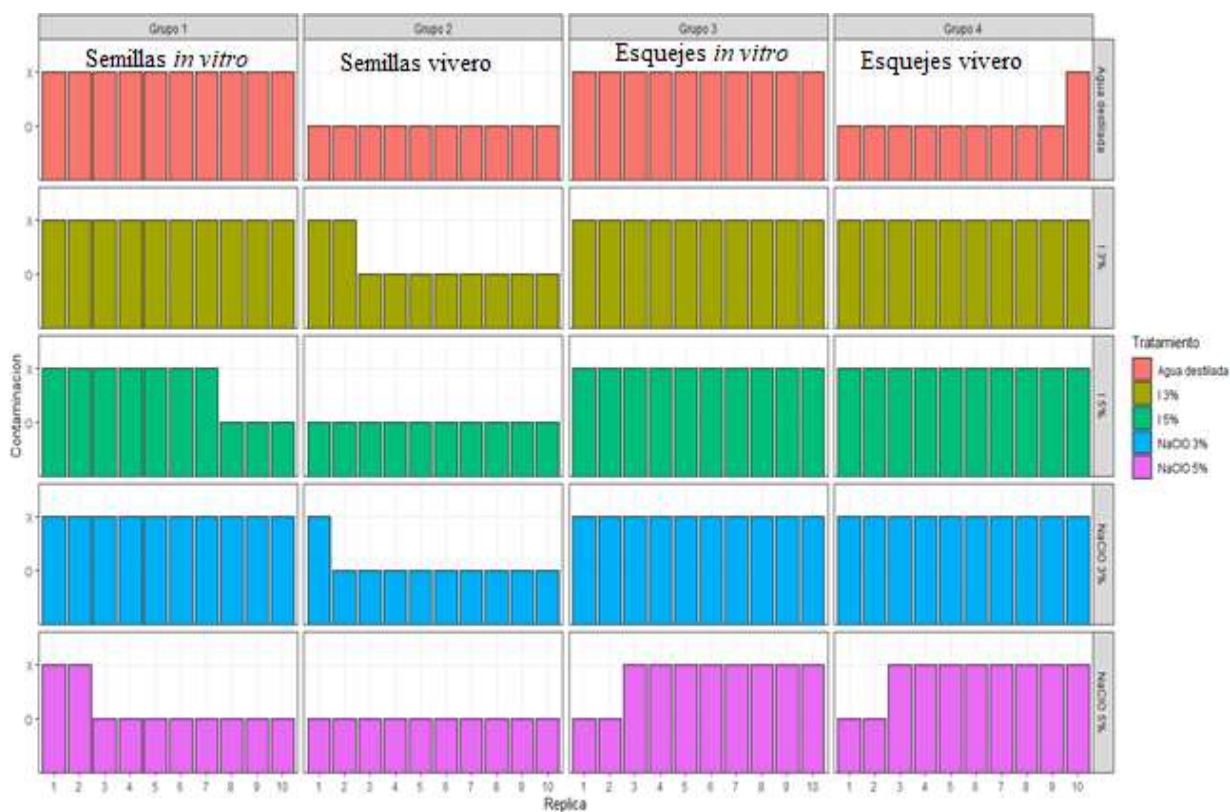
Nota. Promedios con letras a y b que son significativamente diferentes de acuerdo a la prueba de Tukey. Fuente: Elaboración propia, 2021.

7.2 Evaluación de la eficacia de los protocolos de desinfección en el establecimiento de material vegetal *in vitro* y en almacigo en vivero.

Se trabajaron con los 4 grupos de experimentación para semillas y esquejes de la planta, donde se expusieron a diferentes tratamientos con productos químicos comerciales rentables con base a la economía de la producción de los frutales de la región, indicando cual protocolo presenta rentabilidad frente a la desinfección de semillas.

Figura 23

Representación gráfica de los datos de contaminación



Nota. Las semillas y esquejes contaminados se representan por X y los que no se contaminaron por O. Análisis general de los protocolos de desinfección. Fuente: Elaboración propia, 2021.

Con los datos de contaminación obtenidos después de la aplicación de los tratamientos donde se definieron los protocolos efectivos en el control de patógenos para las semillas y los esquejes de maracuyá, la utilización de hipoclorito de sodio al 5% y 3% y con el yodo al 5% y 3% fueron útiles para la desinfección de semillas en propagación *in vitro* y en almacigo disminuyendo patógenos la población de patógenos asociados pero no son tan eficientes en otorgar la descontaminación completa para los esquejes y semillas al igual que el testigo en los grupos 1,2 y 3 lavados con agua destilada se contaminaron. Esto indica que los protocolos en alto porcentaje tienden a ser idóneos, pero inhiben la germinación, lo cual la utilización de estos productos químicos se puede rebajar en su concentración y disminuir su tiempo de exposición, sin causar afectación a los tejidos meristemáticos y calidad de las semillas. Para los esquejes en almacigo desinfectados con hipoclorito al 5% y testigos lavados con agua destilada fueron eficientes en los resultados de asepsia y germinación.

Algunos autores recomiendan que la efectividad está influenciada al utilizar los protocolos de desinfección con concentraciones más bajas de desinfectante en comparación con los utilizados en esta investigación. En concordancia con otros estudios sobre la desinfección se ha logrado desinfectar con porcentajes más bajos de hipoclorito de sodio explantes y otras partes de la flor en maracuyá (Silva pupo et al., 2005).

Tabla 12*Distribución de frecuencias para desinfección grupo 1*

Grupos	Tratamiento	Desinfección	n	%
Grupo 1	NaClO 5%	O	8	80%
Grupo 1	NaClO 5%	X	2	20%
Grupo 1	NaClO 3%	X	10	100%
Grupo 1	I 5%	X	7	70%
Grupo 1	I 5%	O	3	30%
Grupo 1	I 3%	X	10	100%
Grupo 1	Agua destilada	X	10	100%

Nota. Las semillas contaminadas son representadas por X y las no contaminadas están representadas por O. Fuente: Elaboración propia, 2021.

De acuerdo a la tabla anterior, los resultados obtenidos en el grupo 1 donde se desinfectaron semillas *in vitro* con los protocolos de desinfección con NaClO al 5% solo se contaminaron 2 semillas para el 20% de las muestras y los 8 semillas con el 80% con este tratamiento presentaron inocuidad en el medio de cultivo Murashige and Skoog, con NaClO al 3% se contaminaron todas las semillas en el medio, con I al 5% solo presentaron inocuidad el 30% de las muestras con este tratamiento y el 70% restante se contaminó, las semillas con I al 3% y agua destilada se contaminaron en su totalidad, lo cual indica que existe una baja viabilidad en la utilización de las concentraciones de cloro y yodo para la utilización en los medios de cultivo.

Tabla 13*Distribución de frecuencias para desinfección Grupo 2*

Grupos	Tratamiento	Desinfección	n	%
Grupo 2	NaClO 5%	O	10	100%
Grupo 2	NaClO 3%	X	1	10%
Grupo 2	NaClO 3%	O	9	90%
Grupo 2	I 5%	O	10	100%
Grupo 2	I 3%	X	2	20%
Grupo 2	I 3%	O	8	80%
Grupo 2	Agua destilada	O	10	100%

Nota. Las semillas contaminadas son

representadas por X y las no contaminadas están

representadas por O. Fuente: Elaboración propia,

2021.

De acuerdo con la tabla anterior, los resultados de los protocolos de desinfección para las semillas en vivero con NaClO al 5% no presentaron contaminación en las bandejas de germinación, pero con NaClO al 3% solo se contaminó una semilla y los 9 semillas restantes no se contaminaron guardando inocuidad en el sustrato utilizado, para el grupo de semillas con I al 5% no se presentó contaminación y con las semillas de I al 3% solo se contaminaron dos y los 8 restantes se mantuvieron inocuas con el sustrato en la bandeja. Se presentó una variable interesante el cual el grupo testigo de las semillas solo lavadas con agua destilada en la bandeja de germinación no presentó algún tipo de patógeno existente en el sustrato utilizado.

Tabla 14*Distribución de frecuencias para desinfección Grupo 3*

Grupos	Tratamiento	Desinfección	n	%
Grupo 3	NaClO 5%	X	8	80%
Grupo 3	NaClO 5%	O	2	20%
Grupo 3	NaClO 3%	X	10	100%
Grupo 3	I 5%	X	10	100%
Grupo 3	I 3%	X	10	100%
Grupo 3	Agua destilada	X	10	100%

Nota. Las semillas contaminadas son representadas por X y las no contaminadas están representadas por O. Fuente: Elaboración propia, 2021.

De acuerdo con la tabla anterior, los resultados presentados en el grupo 3 esquejes *in vitro* con el protocolo de NaClO al 5% presento inocuidad en el 20% de los esquejes establecidos en el medio de cultivo y los 8 esquejes restantes con esta concentración de NaClO al 5% se contaminaron. Para los demás protocolos con las diferentes concentraciones y productos utilizados se contaminaron en su totalidad en el medio de cultivo Murashige and Skoog, los esquejes con agua destilada de igual manera mostraron contaminación.

Tabla 15*Distribución de frecuencias para desinfección Grupo 4*

Grupos	Tratamiento	Desinfección	n	%
Grupo 4	NaClO 5%	X	8	80%
Grupo 4	NaClO 5%	O	2	20%
Grupo 4	NaClO 3%	X	10	100%
Grupo 4	I 5%	X	10	100%
Grupo 4	I 3%	X	10	100%
Grupo 4	Agua destilada	X	1	10%
Grupo 4	Agua destilada	O	9	90%

Nota. Las semillas contaminadas son representadas por X y las no contaminadas están representadas por O. Fuente: Elaboración propia, 2021.

De acuerdo con la tabla anterior, los resultados de los protocolos de desinfección en el grupo 4 de esquejes en vivero con el tratamiento de I al 3% y 5% se contaminaron, para el protocolo con NaClO al 3% se contaminaron los 10 esquejes con presencia de patógenos, con NaClO al 5% se contaminaron 8 esquejes y 2 no presentaron contaminación en bandeja de germinación representando así el 20% de eficiencia de inocuidad en el esqueje tratado. Para el testigo con agua destilada se contaminó un solo esqueje y los 9 restantes no se contaminaron guardando su inocuidad en la bandeja de germinación.

7.3 Evaluación de la germinación y el crecimiento de material vegetal de *Passiflora edulis* en propagación *in vitro* y en almacigo en vivero.

Los resultados presentados para la evaluación de la germinación y el crecimiento del material vegetal solo se presentaron en el grupo 4 (esquejes en vivero) y para los demás grupos de evaluación no hubo resultado esperado de germinación y crecimiento, tabla 16:

Tabla 16

Distribución de frecuencias para germinación Grupo 4

Grupos	Tratamiento	Germinación	n	%
Grupo 4	NaClO 5%	X	8	80%
Grupo 4	NaClO 5%	O	2	20%
Grupo 4	NaClO 3%	X	10	100%
Grupo 4	I 3%	X	10	100%
Grupo 4	I 5%	X	10	100%
Grupo 4	Agua destilada	X	1	10%
Grupo 4	Agua destilada	O	9	90%

Nota: Los esquejes germinados son representadas por

O y las no germinadas están representadas por X. Fuente:

Elaboración propia, 2021.

Para la evaluación de la germinación fue necesario identificar que esquejes presentaron enraizamiento conservando la vigorosidad de esa parte de la planta. Todos los protocolos tuvieron un tiempo de espera definitivo para determinar si hubo germinación o no hubo germinación. Para los grupos 1 y 2 no se presentó germinación de las semillas con ninguno de los protocolos de desinfección en vivero e *in vitro*, para el grupo 3 esquejes *in vitro* no hubo germinación debido a la contaminación presentada con todos los protocolos,

pero para el grupo 4 esquejes en vivero se presentó germinación con NaClO al 5% con esqueje de 10 utilizados en el ensayo, también se presentó germinación en 9 esquejes de 10 testigos que fueron solo lavados con agua destilada. Por la concentración tan alta del cloro no infiere el producto porque solo se utilizó agua destilada no importa la marca sino la concentración del desinfectante a tal punto de que lo oxida. Se estableció que la relación entre un descontaminante puede generar porcentajes negativos en la germinación de esquejes, llegando a oxidar los tejidos del explante utilizado y el lavado con agua estéril puede ser positivo para mejorar la germinación del esqueje.

Dichos protocolos de desinfección desarrollan una metodología en el agricultor que sirve para que a través del cultivo *in vitro* se mejoren las altas de multiplicación, se obtengan plantas vigorosas, productivas y libres de organismos patógenos y que sean idénticas al fenotipo seleccionado del patrón clonal (García Águila et al., 2012). La mayoría de los productores establecen sus cultivos sin criterio técnico para su tutorado y sistema de riego (Ocampo et al., 2013), por esta razón el riesgo aumenta frente a enfermedades endémicas que afectan las plantas (Meletti et al., 2005), basados en los estudios realizados de variabilidad genética para mejorar la especie han sido, por esta razón esta investigación muestra los resultados bajos en la germinación del maracuyá amarilla producida en un vivero de manera convencional.

Cabe resaltar que las semillas de maracuyá y los esquejes presentan problemas de virulencia y bacterias el cual solo se pueden controlar con desinfectantes específicos para cada patógeno, pero los dos utilizados son de bajo costo para el productor, pudo influir dentro de la germinación esperada en la investigación. Existen otros factores ambientales como la humedad del sustrato, la temperatura, la luz y el oxígeno presente que indican la efectividad en el proceso de la germinación y la velocidad con que una semilla desprende su radícula y su cotiledón (Probert, 2000). La falta de mejoramiento genético ha disminuido la producción de frutos y disminuyendo la vida de la especie por año (Ocampo et al., 2009).

8. Conclusiones

- Se pudieron obtener plantas madre sanas de *Passiflora edulis var. flavicarpa* en almacigo en vivero con tallo y elongaciones uniformes, hojas y zarcillos de buena forma sin daños por patógenos las cuales fueron utilizados para la implementación de protocolos desinfección y propagación *in vitro* y en vivero.
- El método de germinación y propagación de semillas comerciales y convencionales generó información valiosa sobre los procesos que necesitan las semillas para el análisis de factores importantes en vivero como la supervivencia y viabilidad de maracuyá lo que permitió demostrar una mejor viabilidad en el uso de semillas comerciales en comparación las semillas convencionales.
- Luego de aplicar los protocolos de desinfección con hipoclorito de sodio al 3% y al 5%, con yodo al 3% y 5% podemos decir que los primeros dos tratamientos con hipoclorito de sodio presentan mayor eficacia en la reducción de la contaminación del material vegetal como semillas y esquejes en el medio de cultivo y en el sustrato en vivero.
- Para la fase de evaluación en vivero tanto las semillas como los esquejes presentaron una contaminación baja que permite establecer que la aplicación de algún desinfectante con concentraciones mayores a 3% inhibe el crecimiento de las semillas, pero no de los esquejes que fueron solo lavados con agua destilada.
- Al evaluar los parámetros de germinación y crecimiento del material vegetal de maracuyá tanto en laboratorio como en vivero se pudo evidenciar, que los grupos 1, 2 y 3 se vieron afectados por las concentraciones de hipoclorito de sodio al 3% y 5% y yodo al 3% y 5%, donde no se presentó germinación ni con el testigo. El grupo 4 que consistía de esquejes en vivero fue el único que logró establecer un mecanismo de propagación con formación de raíces

luego de la aplicación de hipoclorito de sodio al 5% con dos esquejes germinados y los testigos del lavado con agua destilada.

9. Recomendaciones

- Los resultados de la investigación resaltan las semillas comerciales con diferencia en la germinación donde se demuestra en todos los aspectos evaluados la rentabilidad de utilizarlas, se recomienda mejorar la utilización de semillas extraídas del fruto con protocolos utilizados en el experimento, pero haciendo más énfasis en la supervivencia de las plántulas factor primordial en la selección de plantas con mejores características.
- Se recomienda el estudio para mejorar la variedad y calidad en semillas convencionales extraídas de frutos de óptima calidad, ya que así el proceso en la conservación de la línea de producción en un cultivo comercial se mantendría al igual que la propagación clonal dentro de las características de mantenimiento con buenas prácticas agrícolas en un vivero.
- Es recomendable evaluar protocolos de desinfección menos drásticos en porcentaje del producto químico utilizado evitando la pérdida de la germinación de las semillas y evitando oxidar de forma drástica los esquejes.
- Mantener siempre el pH adecuado en el medio de cultivo es recomendable ya que en el momento de la preparación de disoluciones basales para propagación de vitroplantas este tiende a desestabilizarse por la adición de cualquier sustancia que complementa el medio para cualquier semillas, esquejes o parte de la planta que se quiera establecer en un medio de cultivo MS.

10. Glosario

Micropropagación: Práctica que consiste en multiplicar rápidamente y/o regenerar materia vegetal para producir una gran cantidad de nuevas plantas genéticamente idénticas, con métodos de laboratorio modernos.

In vitro: El término *in vitro* es de origen latín que significa “dentro del vidrio”. En consideración de lo anterior, *in vitro* es la técnica que se realiza fuera del organismo, dentro de un tubo de ensayo, en un medio de cultivo, o en cualquier otro ambiente artificial.

Esqueje: Tallo o cogollo que se introduce en tierra para reproducir la planta.

Semillas: Grano contenido en el interior del fruto de una planta y que, puesto en las condiciones adecuadas, germina y da origen a una nueva planta de la misma especie

Protocolo: Secuencia detallada de un proceso de actuación científica, técnica, médico y académico.

Desinfectante: Que desinfecta o elimina alguna infección o propiedad de causarla destruyendo los gérmenes nocivos o evitando su desarrollo.

Estaminodio: En botánica, un estaminodio es a menudo un estambre rudimentario, estéril o abortado. Esto significa que no produce polen.

Referencias

Ariza Pedroza, M y Salazar Triana, P. (2020). Evaluación y posible control biológico de los patógenos causantes de las enfermedades "secadera" y "roña" en cultivos de *Passiflora edulis* en una finca de Pacho, Cundinamarca. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca.

BEDOYA-PÉREZ, JUAN CARLOS, SÁNCHEZ JARAMILLO, CLAUDIA YANETH, BERMUDEZ GÓMEZ, SANDRA MILENA, & RAMIREZ RESTREPO, SARA. (2016). ESTANDARIZACIÓN DE UN PROTOCOLO DE DESINFECCIÓN Y ESTABLECIMIENTO DE CULTIVO In vitro DE *Aloysia tryphilla*. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 14(2), 38-46. [https://doi.org/10.18684/BSAA\(14\)38-46](https://doi.org/10.18684/BSAA(14)38-46)

Cardona, C. E., Aramendiz, H., Robles, J., López, V., & Ubarnes, J. (2005). Efecto de diferentes ambientes y empaques sobre la viabilidad de semillas de maracuya (*Passiflora edulis* var. *Flavicarpa* Degener). *Revista Temas Agrarios*, 10(2), 15+. <https://link.gale.com/apps/doc/A416403998/IFME?u=anon~76e1293&sid=googleScholar&xid=4c35a9e0>

Caroca, Rolando, Zapata, Nelson, & Vargas, Marisol. (2016). EFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE LA GERMINACIÓN DE CUATRO GENOTIPOS DE MANÍ (*Arachis hypogaea* L.). *Chilean journal of agricultural & animal sciences*, 32(2), 94-101. <https://dx.doi.org/10.4067/S0719-38902016000200002>

Diego, M., & Wilma, W. (2012). *Agrociencia Uruguay* Evaluación de métodos para desinfectar semillas de tomate contra cancro bacteriano (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*). *Agrociencia Uruguay - Volumen 16* 1:134-141.

- García, B., Borges García, M., Ros Araluce, C., Castellanos Rubio, Y., Milanés Rodríguez, S., Velásquez Fera, R., & para correspondencia, A. (2004). Efecto de diferentes métodos de desinfección en el establecimiento in vitro de *Guadua angustifolia* Kunth. In Comunicación corta Biotecnología Vegetal (Vol. 4, Issue 4).
<https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/rt/prINTERfriendly/434/html>
- García, J. C, Hernández, Annia, Acebo, Yanelis, & Rives, Narovis. (2008). Obtención de un nuevo método de desinfección de semillas de arroz. *Cultivos Tropicales*, 29(4), 55-59. Recuperado en 28 de abril de 2022, de
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362008000400008&lng=es&tlng=es.
- García-Águila, L., Álvarez, J. M., Alvarado-Capó, Y., González, M., La, M., Mirabal, D., & Romero, C. (2012). Establecimiento in vitro de segmentos nodales de plantas jóvenes de *Annona muricata* L. *Biotecnología Vegetal*, 12(4).
- Gómez, V. A. O., & González, M. J. D. (2010). Regeneración in vitro de *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* y *Passiflora quadrangularis* utilizando dos tipos de explantes provenientes de plantas adultas y bencilaminopurina. *Revista Científica UDO Agrícola*, 10(1), 23-28.
- González, H. (2007). Evaluación de métodos de desinfección y tipos de explante de la especie vegetal *Piper oradendron* Trel. & Standl., para el establecimiento in Vitro. Trabajo para optar el título de maestría multidisciplinaria en producción y uso de plantas medicinales. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad deficiencias químicas y farmacia.

- Hinostroza, R. N., Levandovski, E., & Azul, E. E. A. C. (2019). Maracuyá Aspectos generales de la especie, su cultivo y mercado.
- Manjarrés-Hernández, E., & Perea-Dallos, M. (2012). Establecimiento de un protocolo de propagación de Gulupa (*Passiflora edulis* SIMS.) a partir de embriones cigóticos y yemas axilares. *Agron*, 20(2), 53-64.
- Naturales, R., & Paz, L. (2019). Evaluation of three disinfection methods for the in vitro establishment of papaya (*Carica papaya* L.) in the Sapecho Experimental Station. 6, 24–29.
- Ortíz, L. (2019). Evaluación del crecimiento in vitro de maracuyá amarilla (*Passiflora edulis* SIMS FORMA FLAVICARPA) a partir de segmentos nodales mediante la técnica de organogénesis.
- Otahola, V. (2000). Regeneración de plantas de parchita (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) a partir del cultivo in vitro de discos de hojas. *Bioagro*, 12(3), 71-74.
- Perelmuter, T. (2018). Apropiación de semillas: Soberanía alimentaria y tecnológica en riesgo. *Ciencia, tecnología Y política*, 1(1), 008.
<https://doi.org/10.24215/26183188e008>
- Quintero Esteves, D. Y. (2018). Establecimiento de 2500 m² del cultivo de maracuyá (*Passiflora edulis* var *flavicarpa*) en el municipio de Arauquita-Arauca como herramienta de liderazgo social, político y productivo. Retrieved from https://ciencia.lasalle.edu.co/ingenieria_agronomica/112

Santos Pérez, U. I., Pedraza Santos, M. E., Salgado Garciglia, R., Martínez Palacios, A., Chávez Bárcenas, A. T., & González Arnao, M. T. (2019). Efectividad de métodos para desinfestar semillas de *Laelia autumnalis* para la conservación en nitrógeno líquido. *Nova Scientia*, 11(23), 143–164. <https://doi.org/10.21640/ns.v11i23.1855>

Silva Pupo, J. J., Montes Cruz, S., Acosta Pompa, L., Arias, E., & García Alcántara, A. (2005). Embriogénesis somática: una alternativa para la propagación, mejoramiento y conservación de germoplasma en cacao. *Cuadernos de biodiversidad*, nº 16 (feb. 2005); pp. 9-12.

Vaca-Vaca, J. C., Carrasco-Lozano, E. C., Rodríguez-Rodríguez, M., Betancur-Perez, J. F., & López-López, K. (2016). Primer reporte de un begomovirus presente en maracuya amarillo [*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* (Degener)] en Valle del Cauca, Colombia. *Revista Colombiana de Biotecnología: Colombian Journal of Biotechnology*, 18(2), 56+. <https://link.gale.com/apps/doc/A611654123/IFME?u=anon~94361803&sid=googleScholar&xid=f33f9461>

ANEXOS

- Micosan

<https://laboratoriosincobra.com/productos/linea-otc/micosan>

- Medio de cultivo

<https://quimicompany.com.co/productos-2/medios-para-cultivos-vegetal/hormonas-y-reguladores-de-crecimiento-2/otros/murashige-and-skooq-ms-medium-w-vitamins/>