

PÉREZ ARBELAEZIA

Agosto de 2005

ISSN 0120-7717



Concurso de ilustración botánica, científica y artística
Jardín Botánico de Bogotá - José Celestino Mutis. 50 años
Rosendo Rojas Africano - Primer puesto *Categoría Científica*.



ENRIQUE PÉREZ ARBELÁEZ

1986 - 1972

Sacerdote - Investigador

Fundador del Jardín Botánico de Bogotá José Celestino Mutis

**PÉREZ
ARBELÁEZIA**

Publicación del Jardín Botánico de Bogotá José Celestino Mutis, dedicada a la memoria de su fundador, el doctor Enrique Pérez Arbeláez, quien consagró su vida a institucionalizar la tradición científica de Colombia y a fomentar la investigación, divulgación y defensa de nuestros recursos naturales.



Mutisia clematis L.

Planta ornamental nativa seleccionada como emblema del Jardín Botánico de Bogotá. Debe su nombre a la exaltación que el ilustre botánico Linneo quiso hacer en homenaje a José Celestino Mutis.

Es una planta trepadora con zarcillos, hojas tomentosas en tonalidades verde grisáceo y flores casi siempre pedunculares, que con su color rojo vivo atraen insectos y colibríes.



**ALCALDÍA MAYOR
DE BOGOTÁ D. C.**

Alcalde Mayor de Bogotá D.C.

Luis Eduardo Garzón

**Jardín Botánico de Bogotá
"José Celestino Mutis"**

Directora

Martha Liliana Perdomo Ramírez

Secretaria General

Angélica Díaz Ortiz

Jefe Oficina Asesora Jurídica

Edna Patricia Rangel Barragán

Jefe Oficina Asesora de Control Interno

Nancy Sanabria Rojas

Asesor de Planeación

Vladimir Forero Serrano

Subdirectora Científica

Claudia Córdoba García

Subdirector Técnico Operativo

Rolando Higueta Rodríguez

Subdirectora Educativa y Cultural

Paola Liliana Rodríguez Suárez

PÉREZ - ARBELAEZIA

La revista *Pérez Arbelaezia* es la publicación científica anual del Jardín Botánico de Bogotá José Celestino Mutis, está dirigida a investigadores, estudiantes, científicos y a todas las personas interesadas en los temas que ésta aborda.

Publica artículos científicos originales e inéditos que desarrollan temas de botánica, biología de especies y ecología de ecosistemas altoandinos; a la vez, abre el espacio para la presentación de ensayos, reflexiones, revisiones y conferencias que aportan al conocimiento de dichas disciplinas, así como de otras áreas misionales de la entidad, tales como la arborización urbana, la agricultura urbana y la educación ambiental.

Comité Editorial

Martha Liliana Perdomo	Directora
Claudia Córdoba	Subdirectora Científica
Paola Rodríguez	Subdirectora Educativa y Cultural
Santiago Madriñán Restrepo	Profesor. Departamento de Ciencias Biológicas Universidad de los Andes
Hernán Mauricio Romero	Profesor. Departamento de Biología Universidad Nacional de Colombia
Andrés Etter Rothlisberger	Profesor - Investigador. Departamento de Biología y Territorio Universidad Javeriana

Editores

Patricia Jaramillo Martínez
Germán I. Andrade Pérez

Comité Científico



Alberto Gómez Mejía	Presidente	Red Nacional de Jardines Botánicos de Colombia
Francisco Sánchez	Asesor	Jardín Botánico
Guadalupe Caicedo	Investigadora	Jardín Botánico
Gustavo Morales	Coordinador colecciones	Jardín Botánico
Ricardo Pacheco	Investigador	Jardín Botánico
Rito Hernán Cardozo	Investigador	Jardín Botánico
Rolando Higueta	Subdirector	
	Técnico Operativo	Jardín Botánico
Sandra Cortés	Investigadora	Jardín Botánico
Tania Rodríguez	Investigadora	Jardín Botánico

Grupo de Árbitros

Alba Stella Riveros	Docente - Investigadora	UT - CATIE
Ana Milena Caicedo	Docente - Investigadora	Universidad del Valle
César E. Barbosa C.	Biólogo - Investigador	Conservación Internacional
Gary Stiles	Docente - Investigador	Universidad Nacional de Colombia
Jaime Pedraza	Docente	Universidad Distrital Francisco José de Caldas
José Luis Fernández	Docente - Investigador	Universidad Nacional de Colombia
María M. Gaitán U.	Coordinadora Unidad de Comunicación, Educación y Participación	Instituto A. von Humboldt Colombia
Orlando Rangel	Profesor	Universidad Nacional de Colombia
Orlando Vargas	Profesor - investigador	Universidad Nacional de Colombia
Santiago Díaz P.	Presidente	Academia de Historia
William M. Mora P.	Docente	Universidad Distrital Francisco José de Caldas

PÉREZ ARBELAEZIA

Publicación anual

© 2005 - Jardín Botánico de Bogotá José Celestino Mutis

ISSN 0120-7717

La reproducción total o parcial de un artículo debe citar la fuente.

Corresponde a los autores la total responsabilidad de las ideas, tesis y conceptos emitidos en sus respectivos artículos.

Coordinación general

Paola Rodríguez Suárez - Subdirectora Educativa y Cultural

Coordinación editorial

Patricia Jaramillo M. - Comunicación Ambiental

- Corrección:

Germán Ignacio Andrade Pérez

Patricia Reyes Aparicio

Camila Gaitán Gaitán

- Diseño y diagramación: Bibiana Andrea Alturo M.

Impresión

Universidad Nacional de Colombia - Unibiblos

Ilustración carátula

Concurso de ilustración botánica, científica y artística

Jardín Botánico de Bogotá José Celestino Mutis. 50 años

Rosendo Rojas Africano

Primer puesto - *Categoría Científica.*

Jardín Botánico de Bogotá José Celestino Mutis

Av. (Cll) 63 No. 68-95 / Tel: 437 7060 / Fax: 630 5075

www.jbb.gov.co

CONTENIDO

Presentación.....	8
Análisis de conectividad para la Estructura Ecológica Principal de Bogotá en el contexto urbano y periurbano. Fernando Remolina Angarita.....	11
Análisis de la clasificación de corredores ecológicos para la Estructura Ecológica Principal de Bogotá. Fernando Remolina Angarita.....	29
Germinación in vitro de la orquídea <i>Masdevallia ignea</i> Rchb.f a partir del cultivo de semillas provenientes de diferentes tipos de polinización. Belkys A. Pérez Martínez / Ricardo A. Pacheco Salamanca.....	45
Aspectos reproductivos de la orquídea <i>Masdevallia ignea</i> Rchb.f en condiciones de cultivo en el Jardín Botánico de Bogotá "José Celestino Mutis". Nathalia Chavarro Rodríguez / María Argenis Bonilla / José Ricardo Cure Hakim Ricardo Arturo Pacheco Salamanca.....	59
Evaluación de la micropropagación por cultivo de tejidos vegetales in vitro en dos especies de passifloras (<i>Passiflora popenovii</i> Killip y <i>Passiflora edulis</i> Sims). Isabel P. Guzmán Munar / Juan D. Adame Rodríguez / Ricardo Arturo Pacheco Salamanca.....	73
Aproximaciones conceptuales a la construcción de un modelo pedagógico para la Educación Ambiental en el Jardín Botánico de Bogotá "José Celestino Mutis". Alba Carolina Molano Niño.....	105
Las aves del Jardín Botánico de Bogotá "José Celestino Mutis" y del parque Distrital Simón Bolívar: recuento de los últimos ocho años. María Angela Echeverry G.....	115
Gasterópodos terrestres del Jardín Botánico de Bogotá "José Celestino Mutis". Universidad Militar Nueva Granada. Clara Medina Bermúdez / Guadalupe Caicedo Ramírez / Diana Arias Olmos.....	137

PRESENTACIÓN

Apreciado lector:

Para la presente administración constituye un inmenso orgullo tener la oportunidad de conmemorar en el 2005, además de los 50 años de fundación del Jardín Botánico de Bogotá José Celestino Mutis, 20 años de creación de la revista científica *Pérez Arbelaez* 1985 - 2005, a través de la cual se ha venido difundiendo el conocimiento producido no sólo por los investigadores que hacen parte del equipo humano de la Institución, sino por parte de destacados científicos que han contribuido al saber de la mega diversidad botánica característica de nuestro maravilloso país.

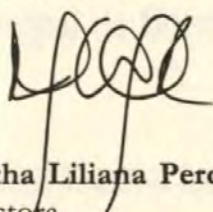
Esta circunstancia nos reta a trabajar en pro del avance cualitativo de la Institución y sus productos, por tal motivo, en la medida que el Jardín Botánico es una entidad que depende del Distrito Capital y se constituye como Centro de Investigación y Desarrollo Científico, se ha elaborado un Plan Estratégico que articula su que hacer al Plan de Desarrollo Distrital, incluyendo la investigación aplicada entre sus propósitos, en el marco del desarrollo sostenible.

En tal sentido, la estructura editorial de la revista *Pérez Arbelaez* corresponde a las líneas de acción del Plan Estratégico de la entidad, en el ámbito de la botánica sistémica, ecología del paisaje, conservación de ecosistemas altoandinos y de páramo, educación y política ambiental; por lo tanto tiene la misión de presentar el conocimiento generado por el Jardín, no sólo en términos de producción científica básica, sino que abre sus páginas a la divulgación de los avances en el conocimiento de las ciencias de la educación, en cuanto al desarrollo pedagógico y a las ciencias aplicadas.

También nos hemos planteado el reto de cumplir con los requisitos de Colciencias para la indexación de la revista *Pérez Arbelaezia*, con el ánimo de participar activa y visiblemente en la comunidad científica internacional y aportar desde nuestro país, al avance del conocimiento científico. Adicionalmente para estar al día en los avances tecnológicos del milenio, pretendemos que sea este ejemplar, el primer número digital de la revista.

Esperamos que el minucioso trabajo de los investigadores que aquí presentamos sea de gran utilidad para usted, Bogotá, Colombia y para todos aquéllos a quienes llegue, en cualquier lugar donde se encuentren.

Mis mejores deseos.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'M. Perdomo', with a long vertical line extending downwards from the end of the signature.

Martha Liliana Perdomo Ramírez

Directora

Jardín Botánico de Bogotá José Celestino Mutis

Evaluación de la micropropagación por cultivo de tejidos vegetales *in vitro* en dos especies de passifloras (*Passiflora popenovii* Killip y *Passiflora edulis* Sims)

Por

ISABEL P. GUZMÁN MUNAR¹

JUAN D. ADAME RODRÍGUEZ²

RICARDO A. PACHECO SALAMANCA³

Recibido: 12 de mayo de 2006 / Aceptado: 25 de julio de 2006

Resumen

Passiflora popenovii Killip y *Passiflora edulis* Sims son especies frutícolas promisorias de gran importancia agroalimentaria. *P. popenovii*, es una especie poco estudiada, con problemas de producción comercial a gran escala, *P. edulis* presenta problemas fitosanitarios, lo cual complica su manejo y exportación. El objeto del presente trabajo fue desarrollar un sistema de multiplicación policlonal de alta calidad fitosanitaria, a partir de secciones nodales y foliares de las dos especies, mediante la evaluación del efecto del AIA (ácido indol acético) y kinetina en la elaboración de un protocolo de micropropagación por cultivo de tejidos vegetales *in vitro*. *P. popenovii* desarrolló agallas, callos y brotes en secciones nodales, por efecto de AIA al 0.5 ppm. y kinetina al 0.5; 1 y 1.5 ppm.; el medio AIA (ácido indol acético) 0.5 ppm. y kinetina 1.5 ppm. estimuló la regeneración de brotes en explantes latentes durante 12 semanas, en medio sin fitorreguladores se obtuvo callos y brotes. La inducción de morfogénesis somática a partir de secciones foliares fue favorecida por el efecto de AIA 0.5 ppm. y kinetina 0.5 ppm. *P. edulis* produjo proliferación masiva de callos a partir de secciones foliares bajo el efecto de kinetina 1.5 ppm., AIA 0.5 ppm., medios Murashige & Skoog y sales de Nitsch & Nitsch; además de un eficiente desarrollo organogénico a partir de secciones nodales inducidas bajo el efecto de medios MS suplementado con sales de Nitsch & Nitsch.

1. Estudiante de Licenciatura en Biología. Universidad Distrital Francisco José de Caldas. paguzmu@gmail.com

2. Estudiante de Licenciatura en Biología. Universidad Distrital Francisco José de Caldas. bioadame@gmail.com

3. Investigador Jardín Botánico de Bogotá José Celestino Mutis. rpacheco@jbb.gov.co

* Artículo producto de la investigación realizada dentro del Convenio de Cooperación Interinstitucional No. 109 de 2004, celebrado entre el Jardín Botánico de Bogotá José Celestino Mutis y la Universidad Distrital Francisco José de Caldas.



Palabras clave:

Passiflora popenovii, *Passiflora edulis*, micropropagación, morfogénesis, organogénesis, agallas, callos.

Evaluation of micro-propagation through *in vitro* tissue culture of two species of passion flowers (*Passiflora popenovii* Killip y *Passiflora edulis* Sims)

Abstract

Passiflora popenovii Killip and *Passiflora edulis* Sims are species with promissory fruits of an enormous agroalimentary importance. *P. popenovii* has not been studied, and shows a wide range of problems related to its commercial production. *P. Edulis* presents phytosanitary problems, complicating its management and exportation on a big scale. The main goal of this research was to develop a polyclonal propagation system of high genetic and phytosanitary standards, by means of *in vitro* tissue culture of nodal and foliar sections from two different species, testing AIA and kinetin effects for the creation of a protocol of micro propagation. *P. popenovii* developed galls, callus plant sprout on nodal sections by effect of 0.5 ppm. AIA and 0.5; 1 and 1.5 ppm. kinetin. Media supplemented with 0.5 ppm. AIA and 1.5 ppm. kinetin stimulated plant sprout regeneration in active explants around week 12, and in media without growth regulators callus and plant sprout were obtained. The induction of somatic morphogenesis from foliar sections was favored by 0.5 ppm. AIA and 0.5 ppm. kinetin. *P. edulis* produced massive proliferation of callus from foliar sections, under the effect of 1.5 ppm. kinetin, 0.5 ppm. AIA, MS medium and Nitsch & Nitsch salts; besides an efficient organogenic development from nodal sections induced under the effect of MS medium, supplemented with Nitsch & Nitsch salts.

Key words

Passiflora popenovii, *Passiflora edulis*, micropropagation, morphogenesis, organogenic, galls, callus.

INTRODUCCIÓN

La falta de conciencia ambiental de la humanidad y el aumento de cierto tipo de monocultivos en nuestros bosques alto andinos conllevan a la destrucción, y desplazamiento de algunas especies de plantas en estas zonas, haciéndolas vulnerables a su extinción. Albert (1991) comenta la gran importancia del estudio de algunas especies de *Passifloras* endémicas de América del Sur, para su explotación, y desarrollo en el mercado colombiano y extranjero.

Pérez (1978) afirma que el desconocimiento del cultivo de las especies nativas ha hecho que los agricultores se especialicen en el cultivo de pocas especies de *Passifloras*, las cuales se aprovechan hoy en día en Colombia, como *Passiflora mollissima*, *Passiflora ligularis*, y *Passiflora edulis* variedad Flavicarpa; no obstante son muchas la curubas y granadillas silvestres que se encuentran produciendo frutos, igual o mas valiosos que los cultivados normalmente.

La granadilla de Quijos (*Passiflora popenovii* Killip) y el maracuyá morado (*Passiflora edulis* Sims) son especies frutícolas promisorias de gran importancia agroalimentaria como afirma Escobar (1991); Sin embargo, *P. popenovii* es una especie poco estudiada, que posee problemas para la producción comercial a gran escala, debido a que fructifica sólo una vez al año Carulla (1991), G. Morales (com. Pers. 2005). *P. edulis* Sims presenta problemas fitosanitarios para la exportación, como el minador (*Diabrotica* sp.), acaro (*Tetranychus mexicanus* y *T. onicus*), roya (*Cladosporium herbarum*), pudrición de cuello de la raíz (*Fusarium* sp), según N. León, com. pers (2005) cultivador y exportador de *Passiflora edulis* Sims y *Passiflora ligularis*. Además de una investigación que realizó Agudelo (1991) en la cual identifica el complejo viral que ataca los cultivos de *Passiflora edulis* Sims.

Por tal razón y considerando esta problemática, se priorizó la necesidad de multipropagar estas especies por la técnica *in vitro* con el fin de generar plantas sanas y de mejor calidad, y así permitir un mayor aprovechamiento y explotación, a partir de la elaboración de protocolos de micropropagación, estableciendo el medio de cultivo y desinfección ideal, además del efecto que tendrán las diferentes concentraciones de fitoreguladores Kinetina y AIA (ácido indol acético) en el desarrollo morfogénético de explantes de sección nodal y de lámina foliar de *Passiflora popenovii* Killip y *Passiflora edulis* Sims.



En este trabajo se evaluaron los beneficios del cultivo de tejidos vegetales *in vitro* en dos especies del género *Passiflora* (*Passiflora popenovii* Killip y *Passiflora edulis* Sims), como alternativa de propagación masiva de material de siembra seleccionado, con alta calidad fitosanitaria y estabilidad genética (clones elites), además de una elevada tasa de multiplicación policlonal (treinta veces más por año en comparación con la propagación por estaca según Briceño 1994), con el fin de contribuir a la obtención, conservación, recuperación y posterior aprovechamiento sostenible de estas especies.

La presente investigación se desarrolló en las instalaciones del Jardín Botánico José Celestino Mutis, en los laboratorios de biotecnología vegetal de la Subdirección Científica, bajo el Convenio # 109 de 2004 entre esta institución y la Universidad Distrital Francisco José de Caldas.

METODOLOGÍA

Passiflora popenovii Killip

Las secciones vegetales provinieron de plantas de 18 meses de edad propagadas en invernadero, a partir de frutos adquiridos en Timbío (Cauca). Las ramas o explantes se lavaron con abundante jabón y agua, retirando la mayor cantidad de residuos externos, luego se introdujeron en un recipiente estéril con detergente alcalino 2 ml./100 ml., durante 15 minutos, posteriormente en etanol al 70%, seguido por hipoclorito de sodio durante 10 minutos (concentraciones y tiempos en la tabla 1), finalmente se realizaron tres enjuagues en agua destilada estéril a 2, 5 y 10 minutos respectivamente.

A los explantes desinfectados se les extrajeron secciones nodales de 1 cm. y foliares de 1x2 cm. (TD5) en cabina de flujo laminar, posteriormente fueron sembrados en medio nutritivo compuesto de sales Murashige & Skoog (MS) al 100%, con compuestos orgánicos de Nitsch & Nitsch, agar 5 g.l⁻¹, sucrosa 15 g.l⁻¹, inositol 100 mg.l⁻¹ suplementado con Ácido Indol Acético (AIA) 0.5 ppm. y kinetina en concentraciones de 0, 0.5, 1.0 y 1.5 ppm., como tratamientos respectivamente (tabla 2). Los cultivos permanecieron en oscuridad durante 6 días, luego en un fotoperíodo natural de 12 horas diarias con intensidad lumínica de 3000 A 5000 lux a una temperatura que osciló entre los 16 – 29 °C.



Tratamiento	Tamaño y descripción del inóculo		Tiempo de exposición del explante en alcohol	Concentración hipoclorito de sodio
	Desinfección	Siembra		
TD1	Sección nodal 3 a 7 cm. Hojas jóvenes 1 a 3 cm.	Sección nodal 1 cm. Sección foliar 1 cm ² .	3 seg.	2.5 %
TD2			1 min.	2.5 %
TD3			1 min.	3.0 %
TD4			1 min.	3.5 %
TD5	Ramas de 20 cm, con hojas de siembra de 7 cm.	Sección nodal 1 cm. Sección foliar 1x2 cm.	1 min.	3.0 %

Tabla 1. Tratamientos para la desinfección (TD) de secciones nodales y foliares en *Passiflora popenovii* Killip.

Se realizaron lecturas cada semana, durante 50 días después de la siembra con cuatro repeticiones por tratamiento; para cada uno de ellos se emplearon 10 unidades experimentales. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar (D. C. A.) y el efecto de los tratamientos fue analizado mediante un análisis de varianza (ANAVA) y comparación de medias por prueba W de Tukey. Las variables de respuesta evaluadas fueron tamaño de callos y agallas en las secciones nodales y número y tamaño de callos foliares. Para el análisis estadístico se utilizó el programa estadístico Statgraphics plus, versión 5.0 (1999-2001)

Especie	Explante	AIA ppm.	Kinetina ppm.	Tratamiento
<i>Passiflora popenovii</i> Killip	Sección foliar y nodal	0	0	T1
		0.5	0.5	T2
			1.0	T3
			1.5	T4

Tabla 2. Tratamientos de kinetina y AIA, para inducir organogénesis y embriogénesis en explantes vegetativos de *Passiflora popenovii* Killip.



Mediante observaciones periódicas se registró en secciones nodales el número de regeneración de brotes, inducción de agallas y callos, algunas veces como dos respuestas en un solo inoculo (agalla y callo) y (agalla y brote), definido como la proporción de explantes que obtuvieron respuesta con respecto al total de explantes. Los datos fueron analizados por el test de Chi-cuadrado de independencia y homogeneidad y el nivel de asociación y correlación de variables por el coeficiente R de Pearson.

***Passiflora edulis* Sims**

Las secciones vegetales para la micropropagación de *Passiflora edulis* Sims provinieron de plantas de 6 y 13 meses de edad propagadas en los invernaderos y banco plantular del Jardín Botánico, a partir de frutos de los mercados locales de la capital. Las ramas o explantes se lavaron con jabón y abundante agua, retirando la mayor cantidad de residuos externos, luego se introdujeron en un recipiente estéril con detergente alcalino 2 ml./100 ml., durante 15 minutos, posteriormente en etanol al 70%, seguido por hipoclorito de sodio durante 10 minutos (concentraciones y tiempos en la tabla 3), finalmente se realizaron tres enjuagues en agua destilada estéril a 2,5 y 10 minutos respectivamente.

A los explantes desinfectados se les extrajeron secciones nodales de 1 cm. y foliares de 1cm.² en cabina de flujo laminar, posteriormente fueron sembrados en medio nutritivo compuesto de sales Murashige & Skoog (MS) al 100%, con compuestos orgánicos de Nitsch & Nitsch, agar 5 g.l⁻¹, sucrosa 15 g.l⁻¹, inositol 100 mg.l⁻¹ suplementado con Ácido Indol Acético (AIA) 0.5 ppm. y Kinetina en concentraciones de 0, 0.5, 1.0 y 1.5 ppm., como tratamientos respectivamente (tabla 4). Los cultivos permanecieron en oscuridad durante 6 días, luego en un fotoperíodo natural de 12 horas diarias con intensidad lumínica de 3000 A 5000 lux a una temperatura que oscila entre los 16 - 29 °C.

Se emplearon 10 unidades experimentales y cuatro repeticiones por tratamiento realizando lecturas semanales por un periodo de 126 días (18 semanas). El programa estadístico empleado fue Statgraphics plus, versión 5.0 (1999-2001). Los datos obtenidos de número de callos, crecimiento nodal y número de brotes foliares, fueron analizados bajo un diseño experimental completamente al azar (D.C.A) y comparación de medias por prueba W de Tukey.

Tratamiento	Tipo de explante	Edad de la planta donante del explante	Tamaño y descripción del inóculo	Tiempo de exposición del explante en alcohol	Concentración de hipoclorito de sodio
TD6	Sección nodal y foliar	13 meses	Sección nodal de 3 a 4 cm.	3 seg.	2.5 %
TD7		13 meses		1 min.	2.5 %
TD8		13 meses		1 min.	3.0 %
TD9		13 meses	Sección foliar hoja juvenil completa	1 min.	3.5 %
TD10		6 meses		1 min.	2.5 %
TD11		6 meses		1 min.	3.0 %
TD12		6 meses		1 min.	3.5 %

Tabla 3. Tratamientos para la desinfección (TD) de secciones nodales y foliares en *Passiflora edulis* Sims.

Especie	Explante	AIA ppm.	Kinetina ppm.	Tratamiento
<i>Passiflora edulis</i> Sims	Sección foliar y nodal	0	0	5
		0.5	0.5	6
			1.0	7
			1.5	8

Tabla 4. Tratamientos de kinetina y AIA, para inducir organogénesis y embriogénesis en explantes vegetativos de *Passiflora edulis* Sims.

RESULTADOS

Passiflora popenovii Killip

Desinfección

En el TD1 el tiempo de exposición en alcohol fue bajo, generando altos índices de contaminación (fig. 1A), para TD2, TD3 y TD4 se obtuvieron porcentajes de contaminación más bajos respectivamente uno al otro. En el TD5 se observó un 35% de contaminación en sección nodal y un 2% en foliar. Con el fin de establecer el tratamiento que evitara el deterioro y destrucción de tejidos, evaluando el porcentaje de vitrificación, latencia y viabilidad, se realizaron dos siembras con el TD3 y el TD5, en donde los inóculos se expusieron a igual concentración de hipoclorito de sodio.

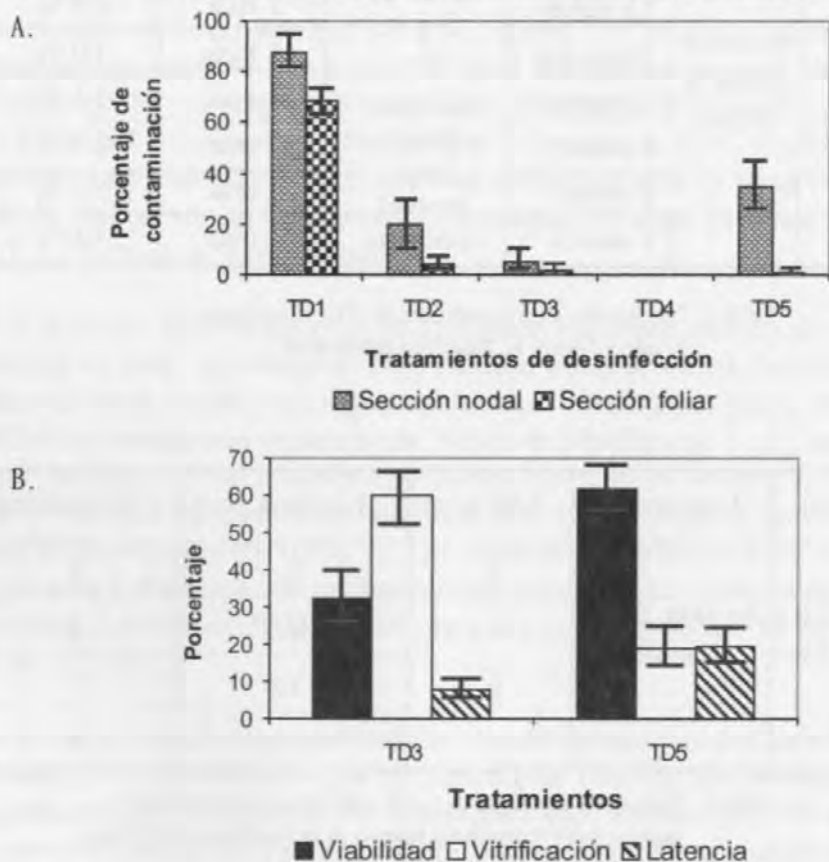


Figura 1. Resultados de desinfección *Passiflora popenovii* Killip. A. Porcentaje de contaminación de cinco tratamientos en secciones nodales y foliares. B. Porcentaje de vitrificación, latencia y viabilidad en el TD3 y TD5.

En la (fig. 1B) se observan las diferencias en porcentajes de explantes viables y vitrificados en los dos tratamientos a evaluar, estableciendo que el TD5 es ideal para siembra al obtener mayor porcentaje de explantes viables, contrario al TD3 que se obtuvo mayor porcentaje de vitrificación, demostrando que los tejidos de *P. popenovii* Killip prefieren evitar en lo posible la exposición a productos tóxicos para la asepsia de explantes, por esta razón, el tratamiento para la desinfección y establecimiento en cultivo de tejidos vegetales *in vitro* de *P. popenovii* Killip fue el TD5.

Inducción de morfogénesis a partir secciones nodales

En la morfogénesis de secciones nodales se obtuvieron varias respuestas respecto a las diferentes concentraciones de kinetina presente en el medio de cultivo, definidas en cinco resultados como: brotes, agallas, callos, y dos respuestas en un sólo explante (agalla y callo) y (agalla y brote).

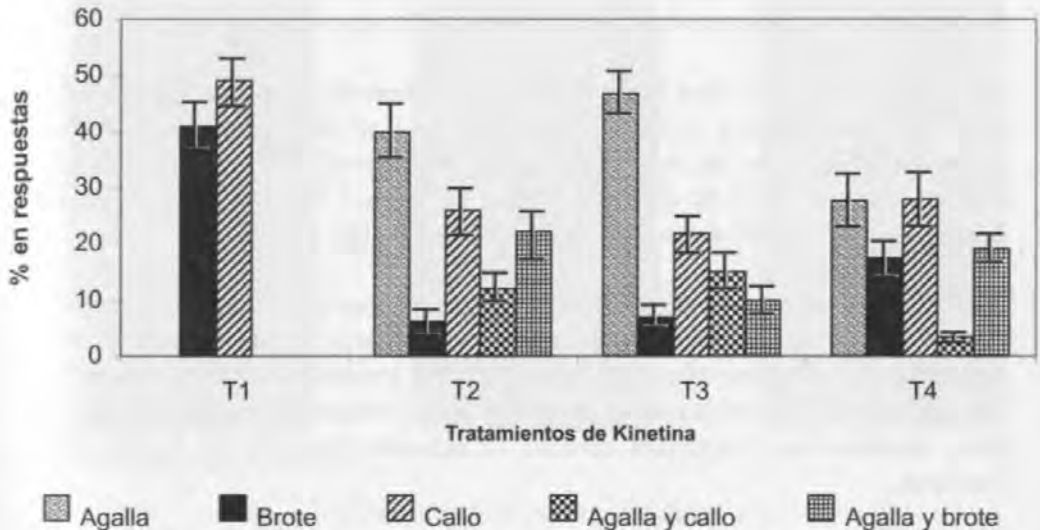


Figura 2. Porcentaje y distribución de respuestas en secciones nodales con respecto al efecto de las diferentes concentraciones de kinetina en *Passiflora popenovii* Killip.



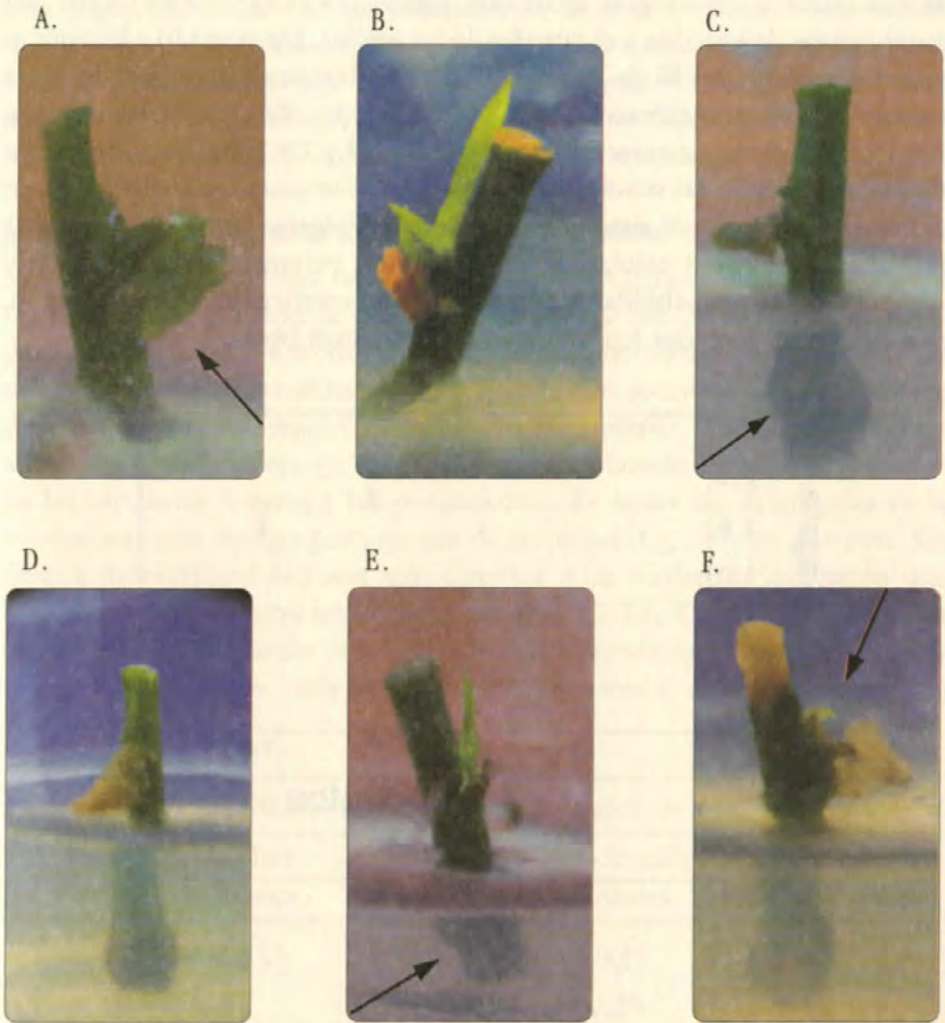
Según la prueba de independencia los resultados tienen relación y dependen de los tratamientos ($p < 0,0001$), por medio del coeficiente R de Pearson (0,0001) existen asociaciones significativas entre tratamientos y la respuesta morfogénica. En la figura 2 se presenta el porcentaje de distribución de cada tipo de respuesta con respecto a los tratamientos de fitoregulator kinetina.

En medio T1 se observó en la primera y segunda semana callos verdes y friables a partir del pecíolo en un 49% (fig. 3A), lo que indica que la división de células inicia gracias al TD5 el cual aislaba el explante de siembra de los productos para desinfección que ocasionan oxidación y vitrificación. Desde la semana 3 inicia la regeneración de brotes en un 41% del total de los explantes (fig. 3B); los que no prosperaron se vitrificaron en 24% la más alta con respecto a los demás tratamientos. En medio T2 se obtuvieron en la semana 1 y 2, callos pequeños en el pecíolo, y a partir de la semana 2 inicio la formación de agallas en la base de la sección nodal (fig. 3C) obteniendo agallas de mayor tamaño en promedio de 2,3 mm. de crecimiento y a la semana 4 algunas agallas generaron brote.

En T3 se formaron callos amarillos de mayor tamaño en promedio de 3,5 mm. en la semana 2 y 3, los cuales crecieron y se mantuvieron por más tiempo. Las agallas se iniciaron desde la semana 3 en adelante, obteniéndose callo y agalla en un sólo explante (fig. 3D), algunas veces se regeneraron brotes con o sin agalla después de la semana 6 (fig. 3F).

En T4 se formaron los callos de mayor tamaño en un promedio de 4,8 mm. Las agallas desarrolladas fueron pocas, sin embargo la mayoría de éstas regeneraron los brotes (fig. 3E). Se obtuvieron brotes incluso sobrepasando la semana 7, estableciendo que la mayor concentración de kinetina evita vitrificación y regenera incluso 12 semanas después los brotes en latencia.

Los callos obtenidos en la primera etapa del proceso se presentan en porcentaje de distribución del tamaño, el cual varió según la concentración de kinetina encontrándose diferencias estadísticas significativas ($p < 0,0001$), en las pruebas de amplitud de medias por el método W de Tukey (fig. 4B). Se observa que las medias de los tratamientos son significativamente diferentes unas de otras con un 95% de confiabilidad (tabla 5), no obstante se observa que los tratamientos 1 y 3 pueden ser un poco homogéneos en tamaño, pero es diferente la viabilidad del callo.



Fotos: Isabel Patricia Guzmán M.

Figura 3. Efecto de la interacción de kinetina y AIA a diferentes concentraciones en la inducción de respuestas en *Passiflora popenovii* Killip.

- A. Callo inducido en semana 2 en T1.
- B. Brote regenerado en semana 4 en T1.
- C. Agalla en la base nodal en semana 2 del T2.
- D. Agalla y callo en semana 4 inducida en el T3.
- E. Agalla y brote regenerado en semana 5 en el T4.
- F. Callo, agalla y brote en semana 6 en T3.

Se encontraron diferencias altamente significativas ($p < 0,0001$) entre los tratamientos de kinetina y el tamaño de las agallas. De acuerdo a la comparación de medias por W de Tukey se denotan diferencias significativas entre las medias del crecimiento final de las agallas (fig. 4A), no obstante en la tabla 5 se observa que entre los grupos de T2-T3 y T3-T4 no hay diferencias significativas entre las medias. Sin embargo existe una mayor diferencia en tamaño del T2 con respecto a los demás tratamientos (fig. 4A). Las agallas activaron la división celular de los explantes, evitando la vitrificación y aumentando la probabilidad de viabilidad del meristemo. Por esta razón, pasadas varias semanas los meristemos generaron brote.

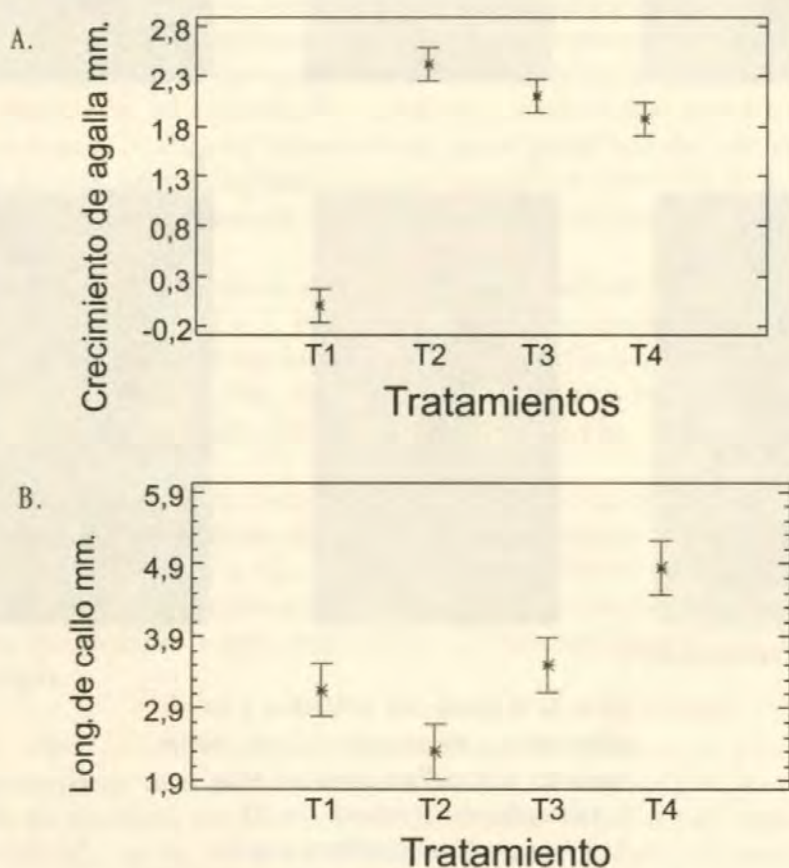


Figura 4. Medias y límites de confiabilidad en un 95% por prueba W de Tukey A. medias de agallas nodales en mm. de crecimiento por efecto de tratamientos de kinetina B. Medias de callos nodales en mm. por efecto de tratamientos de kinetina.



Los brotes producidos en los tratamientos de concentración e interacción de kinetina y AIA, ya sean directamente o con agalla son de crecimiento lento, generando tres hojas inicialmente y creciendo en longitud de 1 mm. por semana. No obstante el T1 sin fitorreguladores favoreció el crecimiento un poco más acelerado entre 1,5 y 2 mm. por semana de dichos brotes.

Inducción de morfogénesis a partir secciones foliares

Se obtuvieron divisiones celulares en pequeños grupos de callos sobre la superficie de la sección de lámina foliar de 1x2 cm. en la semana 2 y 3 a partir de hojas de 7 a 8 cm. (fig. 5). Se realizaron varias pruebas en hojas más jóvenes cercanas al meristemo apical, con secciones de 1x1 cm. en donde no se obtuvo respuesta en ningún tratamiento. Existen diferencias altamente significativas ($p < 0,0096$), entre el número de callos formados en las secciones foliares y los tratamientos. Se observan diferencias en la comparación de medias por pruebas de amplitud (fig. 6A), no obstante, los límites de confiabilidad son más amplios y se traslapan, indicando que sólo existen diferencias estadísticas entre el T1-T3, T2 y T3 (tabla 5). Sin embargo tener en cuenta el número de callos formados por explante no es viable, debido a que varía bastante en la muestra al estar correlacionado con el tamaño.

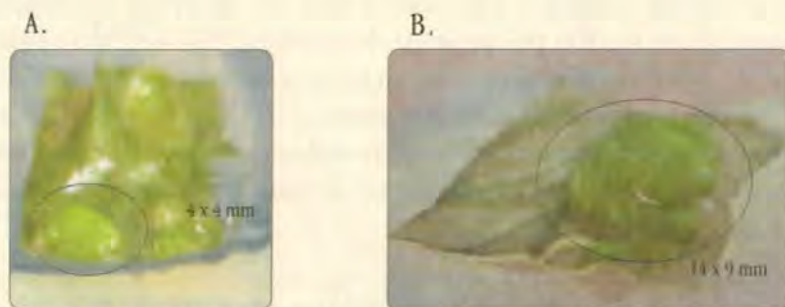
Contraste	Diferencia estimada entre pares de medias			
	Agallas nodales	Callos nodales	No. de callos foliares	Tamaño de callos foliares
T1 – T2	*-2,425	*0,85	0,55	*-4,6
T1 – T3	*-2,1	-0,35	*-2,25	-1,8
T1 – T4	*-1,875	*-1,7	-0,75	-1,6
T2 – T3	0,325	*-1,2	*-2,8	*2,8
T2 – T4	*0,55	*-2,55	-1,3	*3,0
T3 – T4	0,225	*-1,35	1,5	0,2

* Indica diferencias estadísticamente significativas entre medias a un nivel de confianza 95,0%.

Tabla 5. Contraste múltiple de cada par de medias para número de callos foliares formados según tratamiento por el método W de Tukey en *Passiflora popenovii* Killip.

El tamaño de los callos difiere con respecto a los tratamientos, presentando diferencias estadísticas altamente significativas ($p < 0,0001$). En la comparación de medias por prueba Tukey se observa que tres pares de tratamientos a comparación, difieren significativamente (tabla 5).

En el medio de cultivo T1 se producen pocos callos de menor tamaño (fig. 5A), no obstante al generar mayor número de callos, la proporción de estos disminuía. En el T2 el número de callos es reducido, debido a que el tamaño de los explantes es mayor con respecto a los demás tratamientos, los cuales sobrepasan y se fusionan con todos los pequeños callos adyacentes formados sobre la superficie de la sección nodal (fig. 5B y 6B). En el T3 se observó mayor número de callos formados, no obstante éstos tendían a no crecer. Finalmente en el T4 se formaron callos muy similares al T3 que sólo diferían en que se presentan en menor número (fig. 6A).



Fotos: Isabel Patricia Guzmán M.

Figura 5. Efecto de la interacción de los fitorreguladores kinetina y AIA en la inducción de callos en secciones foliares A. callo semana 2 en T1 B. Callo en semana 4 en T2.

***Passiflora edulis* Sims**

Desinfección

Los tratamientos TD6, TD7, TD8 y TD9 evaluados a partir de explantes de secciones nodales y foliares de plantas de 13 meses de edad provenientes de condiciones de campo, obtuvieron los mayores índices de contaminación (40 – 100%), demostrando la ineficacia de estos procedimientos de acuerdo a la procedencia y madurez del material. Por tal razón se optó por trabajar con explantes juveniles de 6 meses de edad establecidos en condiciones semi controladas de invernadero, los cuales presentan mayor respuesta en cuanto a división celular y asepsia (Andrade, 1997), logrando obtener altos índices de esterilidad que oscilaron entre el 95 - 97 % para los tratamientos TD10, TD11 y TD12 (fig.7).

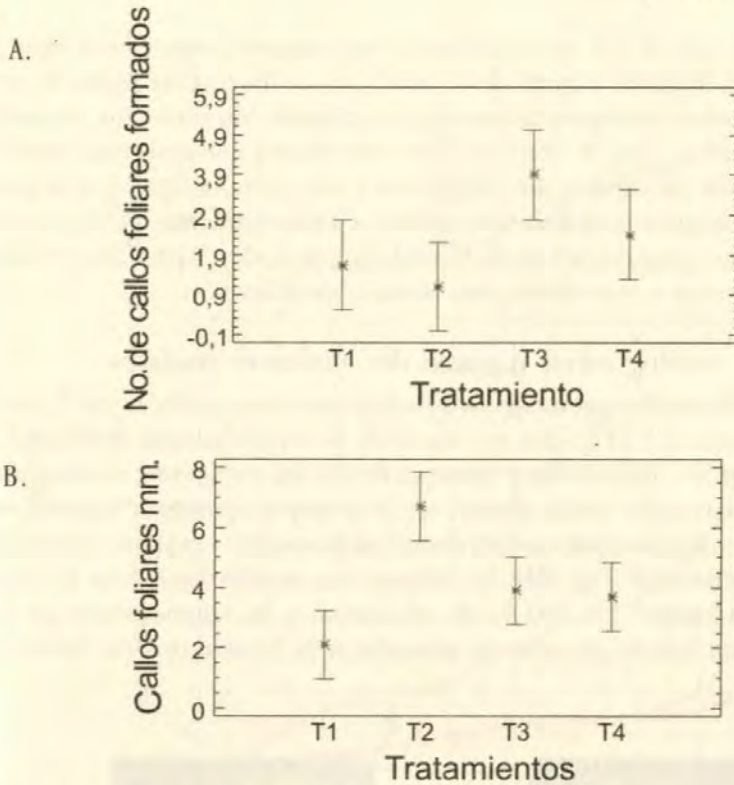


Figura 6. Medias y límites de confiabilidad en un 95% por prueba W de Tukey A. Medias en número de callos foliares por efecto de tratamientos de kinetina B. Medias de tamaños callos foliares en mm. por efecto de tratamientos de kinetina.

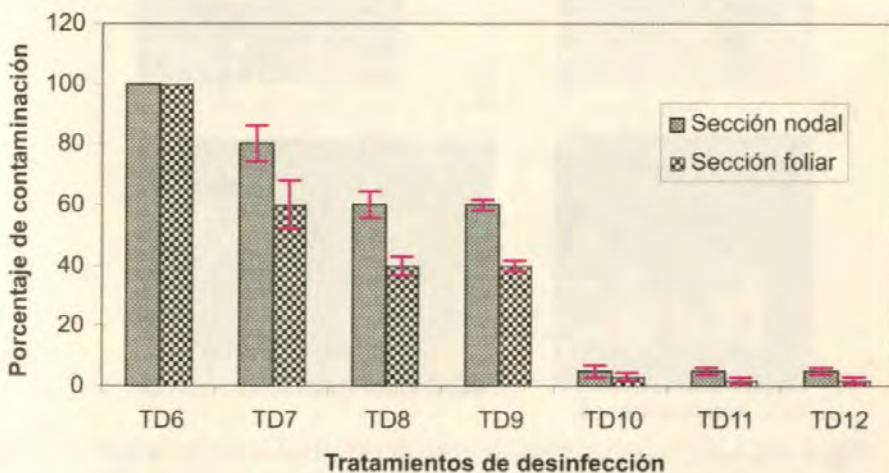
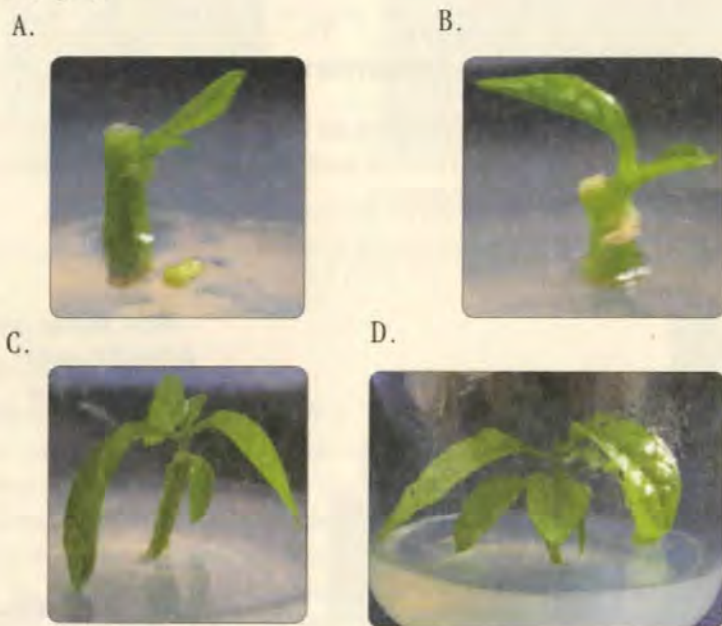


Figura 7. Tratamientos de desinfección evaluados para micropropagación de *P. edulis*.

Dentro de cada uno de los siete diferentes tratamientos propuestos para la desinfección del material vegetal de *P. edulis*, no se logró evidenciar la presencia de oxidación y/o vitrificación en los explantes. Sin embargo, tratando de controlar la secreción de fenoles y de esta manera evitar lo más posible el maltrato y daño de tejidos por oxidación y necrosis, se optó por utilizar para el establecimiento *in vitro* de los explantes del tratamiento TD10, el cual contiene la menor concentración de hipoclorito de sodio (NaOCl) y presenta uno de los mejores resultados en cuanto a desinfección.

Inducción de morfogénesis a partir de secciones nodales

En cuanto al desarrollo organogénico de las secciones nodales de *P. edulis* Sims, el tratamiento 5 (T5) que no contenía fitorreguladores, presentó la mayor respuesta en desarrollo y elongación de los explantes, evidenciándose dicho crecimiento desde finales de la primera semana y lográndose apreciar un crecimiento continuo en donde se llegaron a presentar plántulas de 5.5 en la semana 18 (fig. 9B). Es importante resaltar que para el tratamiento T5 se observó un 100 % de viabilidad y la regeneración de los explantes fue de forma directa de acuerdo a la formación de tejidos y órganos (fig.8).



Fotos: Juan David Adame R.

Figura 8. Secuencia del desarrollo organogénico de un explante de sección nodal en el T5 de de *Passiflora edulis* Sims. A. Explante de 2 semanas B. Explante de 4 semanas C. Explantes de 8 semanas D. 12 semanas.

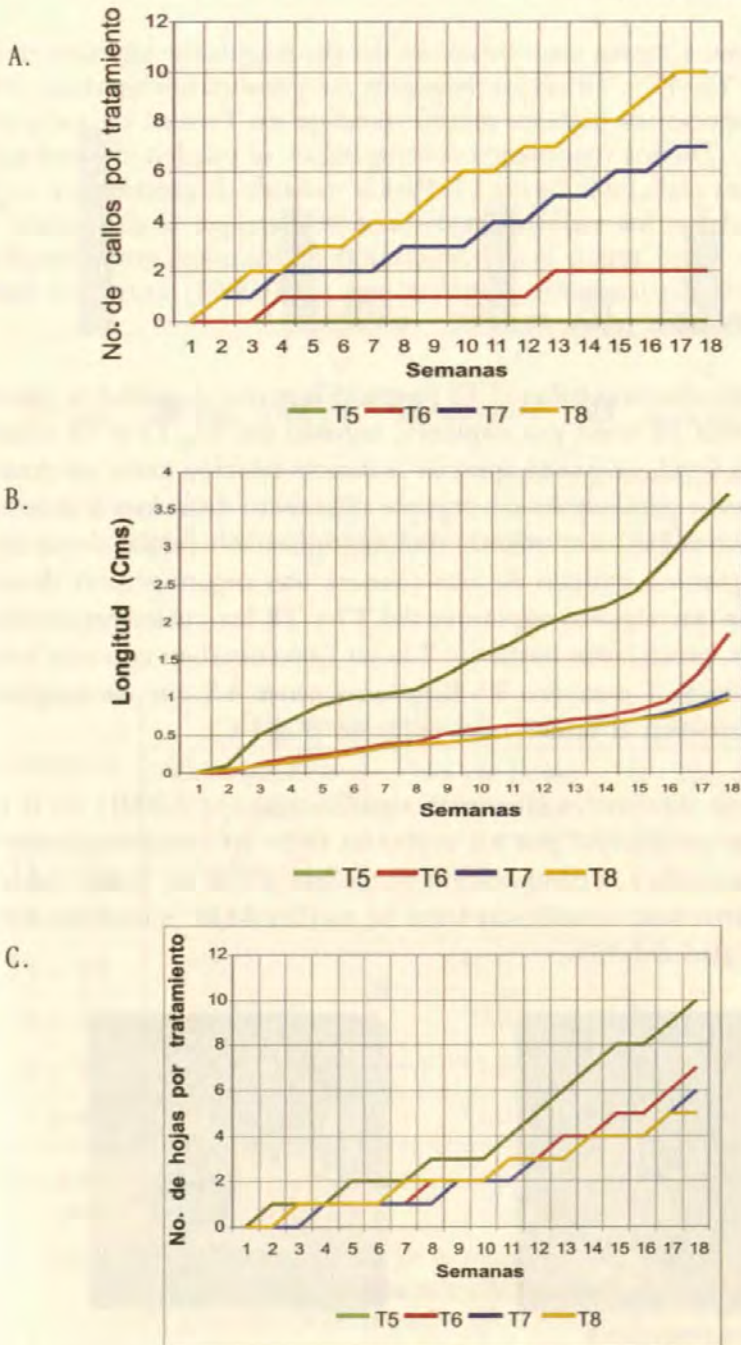
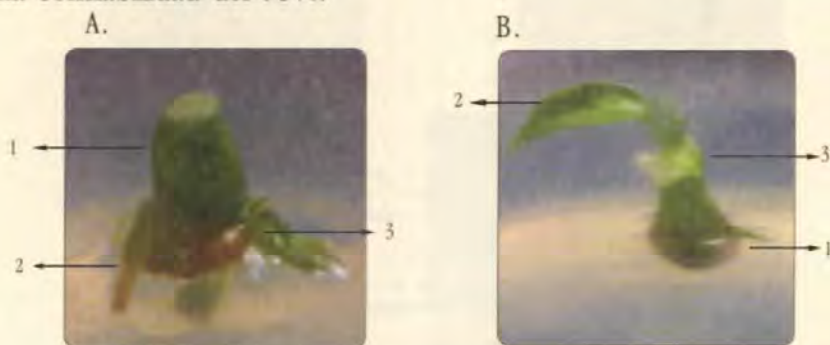


Figura 9. Respuesta al efecto de los fitorreguladores de explantes de *P. edulis*. A. No. de callos presentes por tratamiento. B. Elongación de secciones nodales por tratamiento. C. No. de hojas presentes por tratamientos en secciones nodales.

Se observó que a mayor concentración del fitorregulador kinetina en los tratamientos T6, T7 y T8 respectivamente, se presentaron mayores cambios en las secciones nodales manifestándose en formas de callo y/o agalla (fig.10). Dichos fenómenos morfogénicos se pueden evidenciar de una forma mas clara en la figura 11. Para la variable de crecimiento de las secciones nodales, los análisis estadísticos revelan que la elongación de los explantes varió según la concentración de kinetina, encontrándose diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,0001$) entre los tratamientos propuestos (tabla 7).

En cuanto a producción foliar el T5 propició la mayor cantidad de brotes, generando hasta 10 hojas por explante, seguido del T6, T7 y T8 respectivamente, en donde se puede apreciar la directa relación entre crecimiento del explante y producción de órganos. El efecto de la kinetina redujo la proliferación foliar, ocasionando una multiplicación celular desordenada en los explantes, evitado de esta manera una organogénesis directa. Cabe destacar que algunos explantes del T7 y T8 los cuales presentaban callo y agallas, produjeron hasta 6 y 7 hojas que contaban con una longitud mínima de 5 -7 mm. (en T5 llegaron a tener 4.5 cm. de longitud), siendo proporcional al tamaño del explante (Fig.9 C).

Se encontraron diferencias altamente significativas ($p < 0,0001$) en el número de hojas producidas por los explantes entre las concentraciones de kinetina, de acuerdo a la comparación de medias por W de Tukey (tabla 7) se denotan diferencias estadísticas entre las medias de los tratamientos con una confiabilidad del 95%.



Fotos: Juan David Adame R.

Figura 10. Explantes del tratamiento 8 (T8) de sección nodal de *Passiflora edulis* Sims en la séptima semana de desarrollo *in vitro*. 1. Agalla 2. Brote 3. Callo.

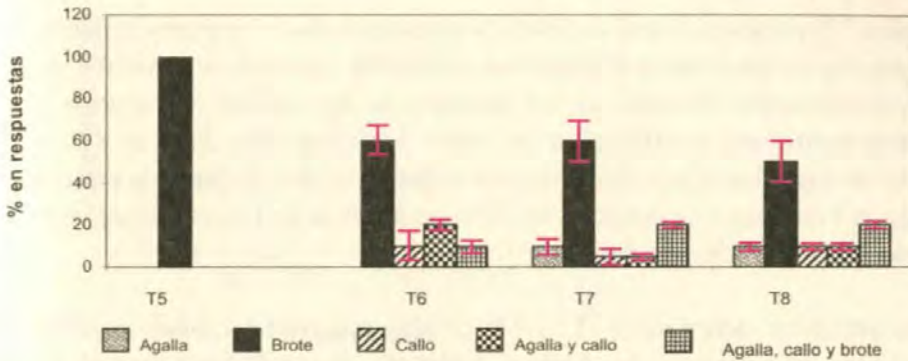


Figura 11. Porcentaje y distribución de respuestas en secciones nodales con respecto al efecto de las diferentes concentraciones de kinetina en *Passiflora edulis* Sims.

Contraste	Diferencia estimada entre pares de medias		
	Crecimiento s. nodal	No. de hojas de s. nodal	No. de callos foliares
T5 – T6	*1,86067	*3.2	-2.0
T5 – T7	*2,64967	*4.0	*-7.0
T5 – T8	*2,71	*5.0	*-10.1
T6 – T7	*0,789	*0.8	*-5.0
T6 – T8	*0,849333	*1.8	*-5.0
T7 – T8	0,0603333	*1.0	*-3.1

* Indica diferencias estadísticamente significativas entre medias a un nivel de confianza del 95,0%

Tabla 7. Contraste múltiple para cada par de medias en cuanto a crecimiento de sección nodal, número de hojas de sección nodal y número de callos foliares a partir de la prueba W de Tukey en *Passiflora edulis* Sims.



Inducción de morfogénesis a partir de secciones foliares

El medio T5 presentó latencia desde la siembra hasta la séptima semana, en donde no se observó multiplicación celular en cuanto a la aparición de callos, ocasionando clorosis en los inóculos en las siguientes semanas y posteriormente una vitrificación de todos los explantes. Para el T6 se observó una producción mínima de callos que se evidenció hasta la tercera semana, sin embargo se observó un 35% de latencia en los explantes, que perduró hasta las últimas semanas.

Los tratamientos siete y ocho (T7 y T8) produjeron gran cantidad de callos desde la segunda semana en algunos explantes, observándose para el T8 a las 8 semanas inóculos hasta con 20 callos de 1.5 X 1.5 mm. Es importante resaltar que el T4 fue el tratamiento que mayor cantidad de callos produjo (fig. 9A), sin embargo el T7 indujo a la producción de callos de dimensiones más representativas que llegaron a medir hasta 5 X 6 mm. (fig.12). En el desarrollo morfogénico de secciones de lámina foliar, se obtuvieron diferentes respuestas de acuerdo a las concentraciones de kinetina en el medio de cultivo, en donde el número de callos por explante se ve relacionado directamente con la dosis del fitorregulador, demostrando por medio de la comparación de medias W de Tukey, que existen diferencias altamente significativas al 95 % de confianza en cada uno de los tratamientos propuestos (fig.13C).



Foto: Juan David Adame R.

Figura 12. Explante de T7 de sección de lámina foliar de *Passiflora edulis* Sims a la sexta semana de desarrollo *in vitro*.

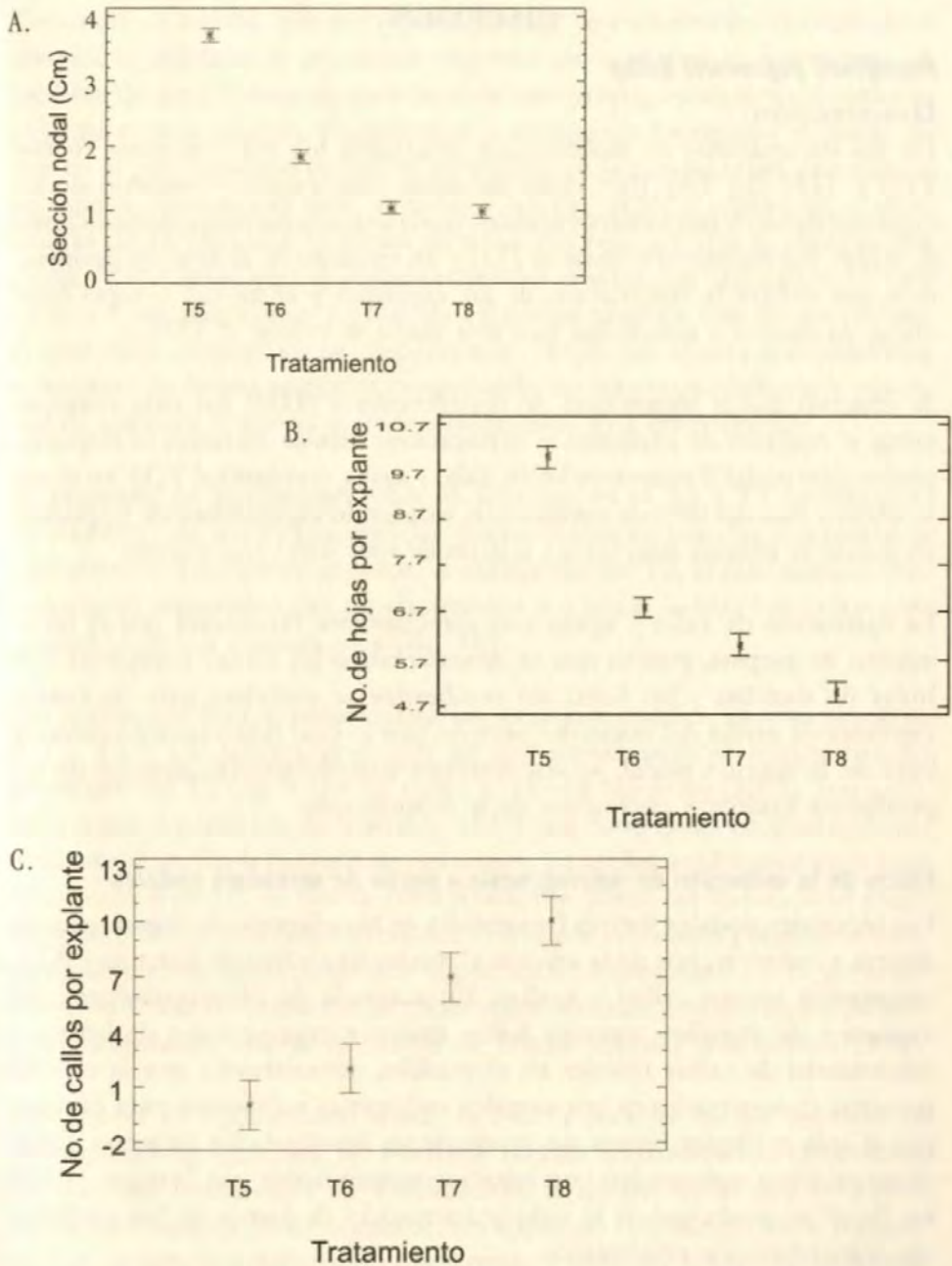


Figura 13. Medias y límites de confiabilidad en un 95 % por prueba W de Tukey. A. Medias elongación de la sección nodal por efecto de los tratamientos de kinetina. B. Medias del número de hojas por explante bajo el efecto de los tratamientos de kinetina. C. Medias del número de callos foliares por efecto del tratamiento de kinetina.

DISCUSIÓN

Passiflora popenovii Killip

Desinfección

De los tratamientos de desinfección evaluados los más efectivos fueron TD3 y TD4 (fig. 1A). Con el fin de evitar vitrificación y maltrato de los explantes de secciones foliares y nodales, por la alta concentración de hipoclorito de sodio fue necesario evaluar el TD3 y un tratamiento alternativo de desinfección que evitara la vitrificación de los explantes y al mismo tiempo fuera eficaz en cuanto a esterilidad, por esta razón se evaluó el TD5.

Se observó que el tratamiento de desinfección 5 (TD5) fue más eficaz en evitar el maltrato de explantes y vitrificación, además aumentó la respuesta por sección nodal al obtenerse brote, callo y agalla, contrario al TD3 en el que se obtuvo más del 60% de vitrificación, existiendo excepciones de respuestas en donde se obtenía sólo brotes axilares de muy lento crecimiento.

La formación de callo y agalla está directamente favorecida por el tratamiento de asepsia, puesto que se desinfectaban las ramas completas con hojas de siembra y las hojas no sembradas se cortaban más de cuatro centímetros arriba del inicio del pecíolo, por lo cual tanto pecíolo como la base de la sección nodal, se encontraban completamente alejadas de los productos tóxicos y corrosivos de la desinfección.

Efecto de la inducción de morfogénesis a partir de secciones nodales

Las secciones nodales fueron favorecidas en la inducción de organogénesis directa e indirecta, por de la adición al medio de cultivo de kinetina y AIA, originando brotes, callos y agallas. En ausencia de fitorreguladores, los explantes de *Passiflora popenovii* Killip tuvieron regeneración de brotes y crecimiento de callos friables en el pecíolo, demostrando que la especie presenta concentraciones hormonales endógenas suficientes para obtener por sí sola múltiples brotes sin ayuda de un fitoregulador exógeno. Estas observaciones concuerdan con estudios mencionados por Serrano (1988) en *Passiflora quadrangularis* al inducir formación de yemas en los pecíolos, sin reguladores de crecimiento.

Teniendo en cuenta que los tejidos jóvenes se encuentran en constantes divisiones celulares y presentan mayores capacidades regenerativas, se facilitan de gran forma algunos procesos de propagación asexual como lo es la micropropagación. Conforme a lo anterior, cabe resaltar el hecho de que en el presente estudio existe un avance en la propagación por cultivo de tejidos vegetales *in vitro*, al inducir brotes, callos y agallas en plantas adultas de 18 (dieciocho) meses de edad. En relación con la observación Pierik (1990) menciona que algunas células adultas son capaces, de forma temporal, de redefinirse y pasar de su forma adulta a una forma juvenil, lo cual tiene consecuencias importantes, ya que las células son inducidas a dividirse de forma intensiva presentando un mayor crecimiento y potencial de división llegando a regenerar órganos y/o embriones.

El aumento de la concentración de kinetina en el T3 y T4 favoreció el crecimiento de los callos nodales aumentando su tamaño conforme la concentración del fitorregulador. A excepción del T2, el cual aunque presenta igual concentración de citoquinina y auxina, indujo los callos más pequeños de los tratamientos (fig. 4B).

Las agallas que fueron inducidas de las secciones nodales, se obtuvieron en el T2, T3 y T4, apreciándose que las que presentaron un mayor tamaño provenían del T2 (fig. 4A) y tal como lo afirma Salisbury (2001), son favorecidas por la presencia de la auxina AIA y una citoquinina en igual o mayor concentración. En la mayoría de ocasiones, las agallas se ubicaron en la base de la sección nodal, de donde posteriormente puede ser inducido su crecimiento a partir de la división de células en nódulos vasculares y meristemoides, localizados en las áreas periféricas superficiales o dentro del tejido, generando centros para la formación de meristemas apicales, embriones incipientes y posteriormente una proliferación de brotes laterales (Hartmann, 1990).

Los brotes se regeneraron desde la cuarta semana en los medios sin fitorreguladores (patrón), no obstante en este tratamiento se obtuvieron los mayores porcentajes de vitrificación, al no presentar una respuesta rápida en cuanto a división celular; sin embargo el aumento en la concentración de kinetina favoreció el desarrollo y división celular de las yemas axilares en explantes latentes hasta doce semanas después de la siembra.

Efecto de la inducción de morfogénesis a partir de secciones foliares

En cuanto a la producción de callos a partir de las secciones foliares de *P. popenovii* Killip, los tratamientos de desinfección fueron de gran importancia en este proceso, en donde el TD5 fue el que actuó más efectivamente, permitiendo división celular en los explantes tratados.

Es reconocido el hecho de que las hojas más jóvenes de las plantas contienen tejidos altamente embriogénicos, en donde se supondría que actuarían de forma activa en procesos morfogénicos (TD3), sin embargo no se presentó ningún tipo de respuesta para cada una de las repeticiones que provenían de este tipo de material vegetal en desinfección.

En aquellos explantes provenientes de los tratamientos de desinfección en los cuales se trabajó con hojas grandes y maduras (TD5), se presentaron respuestas en la formación de callos en varios explantes (T1, T3 y T4 presentaron callos, sin embargo T2 obtuvo los de mayor tamaño). Es probable que algunos de estos folios de tamaños más considerables (pero aún juveniles cercanos al meristemo) se presentaran muy membranosos y aquellas hojas más juveniles cercanas al meristemo terminal, presentarían una consistencia más gruesa y coriácea afectando la inducción de morfogénesis indirecta.

Los resultados del T1 demuestran que para esta especie, la producción de callo en secciones foliares puede ser inducida en un medio sin fitoreguladores. Conforme a lo observado Hurtado (2001), afirma que según la especie, varía la necesidad de utilizar un regulador de crecimiento e incluso bien puede responder solamente en presencia del medio nutritivo, ya que por sí mismos los vegetales tienen un potencial endógeno para la formación del callo, pues en su medio natural, al sufrir una lesión en un órgano ésta es reparada por dicho tejido.

***Passiflora edulis* Sims**

Desinfección

Algunos estudios similares sobre *Passiflora edulis* Sims y variedades relacionadas como los de Briceño (1994) y Andrade (1991), reportan una metodología de desinfección para explantes nodales y foliares, presentado porcentajes no muy adecuados de esterilidad; por tal razón y teniendo en



cuenta que cada investigación presenta diferentes variables en cuanto a la conformación y condición del medio de cultivo, además de las diferencias entre tipos de explantes, se evaluaron algunos tratamientos obteniendo muy buenos resultados para el establecimiento *in vitro* para esta especie. Es reconocido el hecho de que explantes provenientes de plantas colectadas en campo presentan una mayor dificultad en cuanto al establecimiento aséptico *in vitro*, debido a la presencia de diferentes agentes contaminantes dentro y fuera de los tejidos vegetales (TD6, TD7, TD8 y TD9), lo que implica la necesidad de aplicar mayores concentraciones y tiempos de exposición a sustancias químicas, las cuales conllevan a la posterior oxidación y /o vitrificación del explante, que en algunos casos suelen ser ineficaces, tal como se observó en esta investigación (fig. 7).

Los tratamientos TD10, TD11 y TD12, presentaron los mayores índices de esterilidad (95 – 97%) para las secciones nodales y foliares de *P. edulis* Sims, debido a que la obtención de material vegetal proveniente de condiciones semi controladas de invernadero, facilita el establecimiento aséptico de explantes *in vitro*. Del mismo modo, se ha observado que inóculos provenientes de plantas juveniles, facilitan la desintegración de la capa cerosa de los tejidos por parte del alcohol y permiten una mayor penetración del agente desinfectante (hipoclorito de sodio) dentro del material vegetal (Andrade, 1991).

Con base a lo anterior se escogió el TD10, el cual presenta el menor tiempo de exposición y concentración con respecto a los agentes desinfectantes, evitando de tal forma un mayor estrés de los explantes, que pudiese conllevar a una alta producción de polifenoles y posteriormente a la oxidación y/o vitrificación e inclusive la muerte de los inóculos.

Efecto de la inducción de morfogénesis a partir de secciones nodales

Se observó que a mayor concentración del fitorregulador kinetina en los tratamientos T6, T7 y T8 respectivamente, se presentaban mayores cambios en los niveles endógenos de los reguladores de crecimiento de las secciones nodales, apareciendo de esta forma una proliferación rápida de células amorfas, manifestándose en formas de callo y/o agalla, de modo que los explantes presenciaron un crecimiento de grosor (diámetro) y su elongación fue más lenta en comparación al patrón.



Es importante resaltar que la respuesta de un tejido al cultivo *in vitro* es el producto de la interacción de los reguladores de crecimiento endógenos y a aquellos exógenos añadidos al medio. De acuerdo con esto, cada tejido puede responder de manera diferente a una misma concentración de reguladores del crecimiento a causa de diferencias en el contenido de reguladores endógenos (Pérez et. al., 1999).

Del mismo modo, se puede decir que conseguir la extensión y/o división celular, es algo que depende del tipo de inóculo y de la especie vegetal; por tal razón existen explantes que producen suficiente cantidad de reguladores de crecimiento endógenos, no precisando de ninguna adición exógena (Hurtado, 2001).

Con base a lo anterior se justifica el hecho de que el desarrollo organogénico directo de las secciones nodales de *Passiflora edulis* Sims, presentara los mejores resultados en cuanto al crecimiento y elongación de los explantes a partir del tratamiento sin fitorreguladores (patrón), evidenciándose que el tipo y estado de madurez (juventud) de los inóculos, determina unas condiciones ideales en cuanto a la cantidad endógena de reguladores de crecimiento, en donde tal como lo afirma Pierik (1990) es una etapa inequívoca, en la cual las citoquininas se concentran en tejidos con crecimiento activo, ya que los niveles citocinínicos son muy altos en plantas en estados juveniles, promoviéndose la división celular sin ningún efecto de tipo exógeno.

Resultados similares a los obtenidos en esta investigación con respecto al desarrollo organogénico de secciones nodales, han sido reportados para *Passiflora edulis* var. Flavicarpa por Moran y Robles en (1979) (citado por Andrade, 1991), en donde se produjeron callos a partir de este tipo de explantes en medios MS, sales Nitsch & Nitsch y 2 ppm. de kinetina; sin embargo no se lograron diferenciar y regenerar plántulas como tal. Es importante resaltar que para esta especie, se han desarrollado muy pocos trabajos a partir de secciones nodales y los estudios de micropropagación se han basado en el desarrollo de plántulas a partir de yemas, como es el caso de Schall (1983) y García (1993).



Efecto de la inducción de morfogénesis a partir de secciones foliares

Como se puede apreciar en las figuras 9A, 12 y 13C, las secciones foliares tratadas bajo el efecto de los fitorreguladores kinetina y AIA evidenciaron desarrollo en cuanto a la producción de callos en comparación con el tratamiento control (T5).

Los resultados muestran que la adición de kinetina y AIA tiene influencia en cuanto a la formación y proliferación de callos, sugiriendo que el patrón de división y multiplicación celular se ve afectado directamente por la concentración de los fitorreguladores, apreciándose que a mayor concentración de la citoquinina mayor producción de callos en los tratamientos evaluados (el T8 obtuvo los mejores resultados con kinetina a 1.5 ppm).

La proliferación de callos en los tratamientos puede atribuirse a la inducción ejercida por los reguladores de crecimiento en los tejidos, especialmente por la acción de la kinetina que actúa directamente sobre las células, promoviendo la división celular como agente esencial dentro del proceso de mitosis (síntesis de ADN, mitosis y citocinesis) (Pérez et. al., 1999).

Teniendo en cuenta lo anterior y tal como lo afirma Hurtado (2001), la presencia de una citoquinina como la kinetina en un proceso de micropropagación, puede ser negativa en cuanto a la respuesta de multiplicación y diferenciación celular si no es suplementada con una auxina, ya que la interacción de estas dos hormonas estimula la división de las células vegetales y posteriormente intervendrán en la ruta que seguirá la diferenciación celular; por tal razón se asoció la kinetina con el AIA, obteniendo importantes resultados en cuanto a la producción y proliferación de masas celulares de crecimiento desordenado (callos) en los tejidos de sección de lámina foliar de *Passiflora edulis* Sims.

Es conveniente mencionar que el efecto de la kinetina (como ya ha sido descrito anteriormente), favoreció el desarrollo morfogénico de los explantes de lámina foliar en cuanto a la producción de callos, actuando de forma más eficiente que el fitorregulador BAP evaluado a partir de estudios



similares por Scorza & Janik (1976), en discos foliares de la familia Passiflorácea y Briceño en 1994, que con *P. edulis* var. *Flavicarpa* produjo aparentes brotes inconspicuos sólo con segmentos de hojas que presentaban el haz hacia el medio de cultivo.

CONCLUSIONES

- Para *Passiflora popenovii* Killip, el TD5 fue el mejor protocolo de desinfección para secciones nodales y de lámina foliar, provenientes de plantas de invernadero de 18 meses de edad; constituido por explantes nodales de 20 cm. y hojas juveniles completas, exponiéndose en alcohol durante un minuto y posterior sumersión en hipoclorito de sodio al 2.5% por 10 minutos, a los que se les realizó cortes en cabina de 1 cm. y 1 cm.² respectivamente para siembra, obteniendo los mayores índices de esterilidad y viabilidad en los explantes.
- En *Passiflora popenovii* Killip, las secciones nodales se vieron favorecidas en cuanto a la producción agallas, callos y la regeneración de brotes a partir de la adición de kinetina y AIA en el medio de cultivo. Sin embargo en ausencia de fitorreguladores se regeneraron brotes y formaron callos en el pecíolo.
- En *Passiflora popenovii* Killip, se indujo en secciones nodales, organogénesis directa e indirecta, mediante el medio de cultivo MS con compuestos orgánicos de Nitsch & Nitsch suplementado con AIA a 0.5 ppm. y kinetina 1.5 ppm., generándose agallas, callos y brotes; además permitió la regeneración de brotes en explantes latentes durante 12 semanas a partir de la siembra, por esta razón fue el medio más eficaz para obtener una alta tasa de multiplicación policlonal a partir de este tipo de explantes.
- La técnica de micropropagación de *Passiflora popenovii* Killip a partir de secciones foliares en medio MS con compuestos orgánicos de Nitsch & Nitsch suplementado con AIA 0.5 ppm. y kinetina 0.5 ppm., indujo callos de mayor tamaño en comparación a otros tratamientos de la investigación, los cuales presentaron proliferación en el margen del explante con dimensiones mucho menores.



- En *Passiflora edulis* Sims se estableció un eficiente protocolo de desinfección para secciones nodales y de lámina foliar para plantas juveniles (de 6 meses de edad) provenientes de condiciones semi - controladas de invernadero, el cual presenta un 97 % de esterilidad y un 0 % de oxidación en los inóculos, utilizando un tiempo de exposición en alcohol de un minuto y una sumersión en hipoclorito de sodio al 2.5% por 10 minutos. No fue posible establecer un protocolo adecuado de desinfección para los explantes vegetativos provenientes de campo.
- La micropropagación de *Passiflora edulis* Sims a partir de sección de lámina foliar, se vio favorecida por la presencia de los fitorreguladores AIA y kinetina, en donde se obtuvo que el mejor tratamiento evaluado en cuanto a la proliferación de callos fue el T8, constituido por un medio nutritivo de sales Murashige & Skoog (MS) al 100%, con compuestos orgánicos de Nitsch & Nitsch, agar 5 g.l⁻¹, sucrosa 15 g.l⁻¹, inositol 100 mg.l⁻¹ suplementado con Ácido Indol Acético (AIA) 0.5 ppm. y kinetina en concentraciones de 1.5 ppm.
- En *Passiflora edulis* Sims se encontró que para la micropropagación de secciones nodales, el tratamiento 5 (T5) presentó los mayores índices en cuanto a elongación y desarrollo organogénico, constituido por un medio nutritivo de sales Murashige & Skoog (MS) al 100%, con compuestos orgánicos de Nitsch & Nitsch, agar 5 g.l⁻¹, sucrosa 15 g.l⁻¹, inositol 100 mg.l⁻¹, el cual regeneró de forma directa un 100% de inóculos, produciendo plántulas *in vitro* con grandes índices de crecimiento.
- En cuanto a *Passiflora edulis* Sims con respecto a un desarrollo organogénico de secciones nodales de forma indirecta, el AIA a 0.5 ppm. y la kinetina a diferentes concentraciones (0.5, 1 y 1.5 ppm.), produce una elongación más lenta de los explantes, pero a la vez estos fitorreguladores ejercen en el inóculo una mayor división celular, induciendo la formación de callos y agallas, en donde bien pueden ser utilizados estos tratamientos para realizar una multiplicación de brotes a partir de tejidos con células indiferenciadas.



Bibliografía

- Andrade, B.** 1991. *Evaluación del método de producción clonal in vitro de maracuyá* *Passiflora edulis* var. *Flavicarpa*. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Agronomía. Bogotá, Colombia.
- Angulo, L.** 1991. *Primer simposio internacional de Passifloras*. Fundación Centro Frutícola Andino. Palmira, Colombia.
- Briceño, H.** 1994. *Micropropagación y pruebas de compatibilidad injerto/patron de tres especies de la Passifloraceae: Passiflora edulis* var. *Flavicarpa* Degener, *P. cincinnata* Mast y *P. caerulea* L. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía. Maracaibo, Venezuela.
- Cancino, G.** 1989. *Propagación vegetativa in vitro y comparación de patrones electroforéticos de Passiflora Mollissima* (HBK) Balley. Pontificia Universidad Javeriana, Departamento de Biología. Bogotá, Colombia.
- Durán, R. & J. Otálora.** 1990. *Estudio Bromatológico de la granadilla de Quijos* (*Passiflora popenovii*), Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Bogotá, Colombia.
- Escobar, L.** 1988. *Flora de Colombia Tomo 1, Passifloraceae*. Editorial P. Pinto y G. Lozano. Universidad Nacional de Colombia. Instituto de Ciencias Naturales. Museo de Historia Natural. Bogotá, Colombia.
- García, M.** 1993. *Comparación del material parental y micropropagado de maracuyá* *Passiflora edulis* Sims, mediante el análisis de electroforegramas de proteínas totales y esterazas. Pontificia Universidad Javeriana. Departamento de Biología. Bogotá, Colombia.
- Hartmann, H.** 1990. *Plant Propagation principles and practices*. Prentice-Hall international. United States.
- Hurtado, D. & M. Merino.** 1987. *Cultivo de tejidos vegetales*. Trillas. México.
- Kantharajah, A. & W. Dood.** 1990. *In vitro micropropagation of Passiflora edulis* Sims (purple passion fruit). United States.
- Pérez, E.** 1978. *Plantas útiles de Colombia*. Fondo FEN Colombia. Bogotá, Colombia.



- Pérez, E.** 1999. *Introducción al cultivo de tejido vegetales*. Universidad Autónoma de Aguascalientes. México.
- Pierik, R.** 1990. *Cultivo in vitro de las plantas superiores*. Mundi – Prensa. Madrid, España.
- Roca, W. & L. RoginskiI.** 1991. *Cultivo de tejidos en la agricultura, fundamentos y aplicaciones*. CIAT. Palmira, Colombia.
- Salisbury, F. & C. Ross.** 1994. *Fisiología vegetal*. Iberoamericana. México.
- Schall, S.** 1983. *Le microbotura in vitro de la granadille Passiflora edulis Sims*. Académie de Montpellier. Université des Sciences el Techniques de Languedoc. Ecole Nationale Supérieur Agronomique de Montpellier. Diplôme D'études Approfondies. Mention Phytotechnie. Montpellier, Francia.
- Scorza, R. & J. Janinick.** 1976. *Tissue Culture In Passifloracea tropic Region*. United States.
- Serrano, C.** 1988. *In vitro propagation of Passiflora quadrangularis*. Tesis the State University of New Jersey. Nj, United States.
- Uribe, L.** 1955. *Pasifloráceas: en Flora de la Real Expedición Botánica del Nuevo Reino de Granad*. Volumen 27. Madrid, España.