



Micropropagación de maracuyá y curuba a partir de segmentos nodales y foliares*

Sara Ximena Caicedo Molina^a ■ Giomar Medina Ospina^b
■ Elsa Helena Manjarrés Hernández^c

Resumen: Las pasifloras en Colombia están presentes en 24 departamentos y 422 municipios, con más de 15 000 hectáreas cultivadas en su mayoría por pequeños y medianos productores. Dentro de las especies más representativas se destacan el maracuyá y la curuba. Las mayores limitantes del sector productivo de estas especies son las técnicas de propagación convencionales, la carencia de adaptación y la climatización de especies. Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue realizar micropropagación *in vitro* de estas dos especies a partir de segmentos foliares y nodales, evaluando diferentes concentraciones de bencilaminopurina (BAP). La investigación se desarrolló en tres etapas: 1) selección y obtención del material vegetal; 2) evaluación del protocolo de desinfección de explantes de segmentos nodal y foliar, y 3) estandarización de la micropropagación *in vitro*. El protocolo de desinfección en el que se empleó NaClO al 1,0 % y al 1,5 % fue el más adecuado para la propagación de la curuba y el maracuyá, sin embargo, es la concentración de 1,0 % la más apta para controlar la contaminación por hongos, bacterias, y factores asociados con necrosis, lo cual favoreció el desarrollo de los explantes. El segmento nodal fue el más adecuado para la propagación y más reactivo que el segmento foliar, bajo la incidencia con BAP. Se pudo comprobar que para la obtención de callos, hojas y brotes, la mejor concentración es la de BAP 1,0 mg/l o el control, mientras que para la obtención de hojas es la BAP 2,0 mg/l. El maracuyá se caracterizó por ser la especie más sobresaliente en el establecimiento *in vitro* con respecto a la curuba.

Palabras clave: micropropagación; bencilaminopurina; *Passiflora edulis* fo. *Flavicarpa*; *Passiflora tripartita* var. *mollissima*

Recibido: 02/10/2023 **Aceptado:** 24/01/2024 **Disponible en línea:** 30/05/2024

Cómo citar: Caicedo Molina, S. X., Medina Ospina, G., & Manjarrés Hernández, E. H. (2024). Micropropagación de maracuyá y curuba a partir de segmentos nodales y foliares. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 18(2), 17-27. <https://doi.org/10.18359/rfcb.6958>

* Artículo de investigación.

- a Bióloga de la Universidad Incca de Colombia, Bogotá, Colombia.
Correo electrónico: sxcaicedom@uincca.edu.co; ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-6116-7940>
- b Magíster en ciencias biológicas. Bióloga de la Universidad Incca de Colombia, Bogotá, Colombia.
Correo electrónico: giomar.medina@uincca.edu.co;
ORCID: <https://orcid.org/my-orcid?orcid=0000-0003-4599-4179>
- c Doctor en ciencias biológicas y ambientales. Magíster en ciencias biológicas. Bióloga de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Tunja, Colombia.
Correo electrónico: elsa.manjarres@uptc.edu.co; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6221-8636>

Micropropagation of Passion Fruit and Curuba from Nodal and Foliar Segments

Abstract: In Colombia, passion fruit is cultivated in 24 departments and 422 municipalities, spanning over than 15,000 hectares, mainly by small and medium-sized producers. Among the most notable species, passion fruit and curuba stand out. The main constraints in the productive sector of these species are traditional propagation techniques and the challenges in adapting to and controlling the climate for these species. Therefore, the objective of this research was to conduct *in vitro* micropropagation of these two species from leaf and node segments while evaluating different concentrations of benzyl aminopurine (BAP). The research comprised three stages: 1) selection and collection of plant material; 2) evaluation of disinfection protocol for nodal and leaf segment explants; 3) standardization of *in vitro* micropropagation. The disinfection protocol using NaClO at concentrations of 1.0% and 1.5% was found to be the most suitable for the propagation of curuba and passion fruit. However, the 1.0% concentration was deemed the most effective for controlling contamination by fungi, bacteria and factors associated with necrosis, which promoted the development of the explants. The nodal segment proved to be more suitable for propagation, exhibiting higher reactivity compared to the leaf segment when treated with BAP. The optimal concentration for obtaining callus, leaves, and shoots was determined to be BAP at 1.0 mg/l or control, while for obtaining leaves, BAP at 2.0 mg/l was preferable. Passion fruit exhibited superior performance *in vitro* establishment compared to curuba.

Keywords: Micropropagation; Benzyl Aminopurine; *Passiflora Edulis F. Flavicarpa*; *Passiflora Tripartita Var. Mollissima*

Micropropagação de maracujá e curuba a partir de segmentos nodais e foliares

Resumo: As passifloras na Colômbia estão presentes em 24 departamentos e 422 municípios, com mais de 15.000 hectares, cultivadas principalmente por pequenos e médios produtores. Entre as espécies mais representativas destacam-se o maracujá e a curuba. As maiores limitações do setor produtivo dessas espécies são as técnicas de propagação convencionais, a falta de adaptação e a aclimação das espécies. Portanto, o objetivo desta pesquisa foi realizar a micropropagação *in vitro* dessas duas espécies a partir de segmentos foliares e nodais, avaliando diferentes concentrações de bencilaminopurina (BAP). A pesquisa foi desenvolvida em três etapas: 1) seleção e obtenção do material vegetal; 2) avaliação do protocolo de desinfecção de explantes de segmento nodal e foliar, e 3) padronização da micropropagação *in vitro*. O protocolo de desinfecção no qual se utilizou NaClO a 1,0% e 1,5% foi o mais adequado para a propagação da curuba e do maracujá, sendo a concentração de 1,0% a mais apropriada para controlar a contaminação por fungos, bactérias e fatores associados à necrose, favorecendo o desenvolvimento dos explantes. O segmento nodal foi o mais adequado para a propagação e mais reativo do que o segmento foliar sob a incidência de BAP. Comprovou-se que, para a obtenção de calos, folhas e brotos, a melhor concentração é a de BAP 1,0 mg/l ou o controle, enquanto que, para a obtenção de folhas, é BAP 2,0 mg/l. O maracujá se destacou como a espécie mais proeminente no estabelecimento *in vitro* em relação à curuba.

Palavras-chave: micropropagação; bencilaminopurina; *Passiflora edulis fo. Flavicarpa*; *Passiflora tripartita var. mollissima*

Introducción

El género *Passiflora* hace parte de la familia pasifloraceae y comprende diversas especies presentes en el territorio colombiano de forma silvestre o cultivada. En Colombia, se han encontrado 165 especies, de las que cerca del 50 % cuentan con un fruto comestible [1]. Entre ellas se destacan especies como maracuyá (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* O.Deg) y curuba (*Passiflora tripartita* var. *Mollissima* (Kunth) Holm-Nielsen y P.Jørg), las cuales aportan nutrientes esenciales como magnesio, calcio, fósforo, hierro, ácido ascórbico, vitamina A, tiamina, fibras, carbohidratos y proteínas, entre otras. Ambas especies son ampliamente utilizadas en las industrias farmacéutica, alimenticia, cosmetológica y ornamental por sus flores vistosas [2].

Estas dos especies de *Passifloras* se cultivan principalmente en los departamentos de Antioquia, Boyacá, Tolima, Huila y Cundinamarca, en su mayoría por pequeños y medianos productores, en los que se evidencia la necesidad de implementar paquetes tecnológicos de cosecha y postcosecha basados en las condiciones de las regiones donde se cultivan. Con esto se buscan estabilizar las cosechas y reducir la infección por diversos microorganismos, entre los que se encuentran hongos (saprofitos, endófitos o patogénicos) que generan cuantiosas pérdidas [3]. Por otra parte, es necesario contar con material vegetal apropiado para obtener una buena calidad de la fruta, además de excelentes rendimientos.

Dentro de la innovación tecnológica que requiere la cadena productiva del maracuyá y la curuba es necesario incursionar en técnicas que mejoren su productividad y la competitividad, debido a que en Colombia hay desconocimiento sobre la procedencia de estas especies y su cultivo, y además no hay material de siembra certificado. Además, la alta variabilidad de los cultivos dificulta conservar cultivares con sobresalientes rendimientos, buen tamaño del fruto y propiedades organolépticas que aportarían a la comercialización y consumo de estas frutas. Los cultivos de tejidos vegetales mediante la micropropagación son una alternativa que permite la producción masiva de plantas, libres de patógenos, a bajo costo,

en espacios reducidos, en menor tiempo y bajo condiciones controladas con enfoques comerciales y agroindustriales [4]. Así mismo, brindan la posibilidad de añadir en el medio de cultivo, agentes y reguladores de crecimiento de interés, con el fin de obtener cultivos más resistentes al cambio climático, a herbicidas y enfermedades que suelen ser problemas que causan pérdidas cuantiosas en la producción de cultivos [5]. También permiten mejorar la calidad de las plantas y obtener material vegetal uniforme con altos estándares de calidad, por lo tanto, en *Passifloras* esta técnica representa una excelente alternativa en la producción de material vegetal.

Por lo anterior, es necesario realizar estudios en micropropagación que permitan mejorar la productividad tanto de maracuyá como de curuba en Colombia. Dentro de este contexto, el objetivo del presente trabajo fue inducir brotes de maracuyá y curuba a partir de segmentos foliares y nodales, evaluando diferentes concentraciones de bencilaminopurina (BAP), para determinar el nivel de concentración que estimula el mayor porcentaje de brotes y así generar alternativas para la producción de plantas uniformes y con altos estándares de calidad en el establecimiento de cultivos comerciales.

Materiales y métodos

Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales, de la Universidad Incca de Colombia, sede Bogotá. La investigación se desarrolló en tres etapas: 1) selección y obtención del material vegetal de maracuyá y curuba; 2) evaluación del protocolo de desinfección más apto para el establecimiento *in vitro* de explantes de segmento nodal y foliar de ambas especies, y 3) estandarización de la micropropagación *in vitro* a partir de segmentos nodal y foliar, evaluando diferentes concentraciones de BAP a 1,0 y 2,0 mg/l, tanto en maracuyá como en curuba.

Fase I: selección y obtención del material vegetal

Para la obtención del material vegetal se sembraron en 12 materas, para cada especie, de aproximadamente 10 semillas de la marca “El semillero”.

El crecimiento de las plántulas fue alrededor de los 12 meses, en condiciones controladas, antes de iniciar la fase del establecimiento *in vitro*, la temperatura media de crecimiento de las plántulas fue de 22 °C, un fotoperiodo de 12 horas luz y de 12 horas oscuridad, con una humedad relativa de 77 %. De las plantas se colectaron segmentos nodales provenientes de tallos vigorosos y con una longitud mayor a los 10 cm. De la misma forma se colectaron ocho hojas (foliolos) por planta para después extraer los segmentos. Las plantas fueron cortadas y trasladadas al Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales, de la Universidad Incca de Colombia.

Fase II: establecimiento del protocolo de desinfección de los explantes

Se realizaron dos ensayos para determinar el protocolo de desinfección de los explantes. En el primer protocolo, los explantes se lavaron con abundante agua destilada estéril. Luego se sumergieron en una solución de agua + *tween 20* y se mantuvieron por 10 minutos en agitación; después se realizaron enjuagues con agua destilada estéril. A continuación, a cada ensayo se le agregó una solución de Benlate 0,5 (fungicida) durante 20 minutos, y enseguida los explantes se pusieron en una solución de hipoclorito de sodio (NaClO, 1,0 o 1,5 mg/L) durante 25 minutos, y por último se les efectuaron tres enjuagues con agua destilada estéril, para, finalmente, dentro de la cámara de flujo laminar, sembrarlos en medio Murashige & Skoog (ms).

En el segundo protocolo, los explantes se lavaron con abundante agua destilada estéril.

Enseguida se sumergieron en una solución de agua + *tween 20* y se mantuvieron por 10 minutos en agitación; después se realizaron enjuagues con agua destilada estéril. A cada ensayo se le agregó una solución de Benlate 0,5 (fungicida) durante 20 minutos; luego se transfirieron los explantes a una solución de Isodine (yodo) al 2,0 % y al 2,5 %, durante 15 minutos, y luego se sumergieron en una solución de hipoclorito de sodio al 2,0 % y al 2,5 %, durante 25 minutos; a continuación se hicieron tres enjuagues del material con agua destilada estéril, por 15 minutos, y, por último, se sembró en medio ms, sin ningún complemento.

Fase III: estandarización de la fase de propagación *in vitro* a partir de segmento nodal y foliar

Los explantes fueron sembrados bajo condiciones asépticas en medio básico ms [6], suplementado con diferentes concentraciones de BAP a 1,0 y a 2,0 mg/L. El diseño experimental fue un arreglo factorial de seis repeticiones por tratamiento (BAP a 1,0; BAP a 2,0 y el control); en cada uno de los frascos se sembraron tres explantes de segmento nodal (fragmentos de tallos de 1 cm de largo) y de segmento foliar (cara abaxial de la hoja), haciendo contacto con el medio de cultivo. Los explantes fueron llevados a condiciones *in vitro*, y se empezó el fotoperiodo de 12 horas / luz y 12 horas / oscuridad, a una temperatura de 25 + / - 1 °C.

Los seguimientos a los ensayos fueron semanales y se evaluaron variables cualitativas y cuantitativas, como se presenta en la tabla 1:

Tabla 1. Variables evaluadas para el seguimiento del establecimiento *in vitro* de maracuyá y curuba

Tipo de explante	Variables cualitativas (presencia 1 / ausencia 0)	Variables cuantitativas (#) (cm)
Segmento nodal	FC: formación de callo PCS: posición de callo superior PCI: posición del callo inferior B: brotes PH: presencia de hojas N: necrosis C: contaminación	B: cantidad de brotes NH: número de hojas HC: hojas caídas LS: longitud del segmento
Segmento foliar	N: necrosis FC: formación de callo	LS: longitud del segmento

Fuente: elaboración propia.

Análisis de datos

Se hizo un análisis descriptivo de las variables cuantitativas con el *software* estadístico InfoStat 2020 [7]; luego se verificaron los supuestos de normalidad y se efectuó el análisis de varianza (Anova). Para determinar si existían diferencias significativas entre los tratamientos, se realizó una prueba de comparación de Tukey con $p < 0,05$, con el *software* R Core Team y los paquetes *psych* y *DescTools* [8]. Así mismo, se estimó la correlación de Pearson con un 5 % de significancia. Para las variables cualitativas se analizaron las frecuencias absolutas y relativas, y, luego, estos datos fueron representados mediante un análisis de barras, con ayuda del *software* Microsoft Excel 2013. Por último, para contrastar la hipótesis de independencia entre variables categóricas se cumplió la prueba de Chi Cuadrado, con un nivel de significancia del 5 %, con la que se determinaron las diferencias entre los tratamientos.

Resultados y discusión

Establecimiento del protocolo de desinfección de los explantes

Para el establecimiento de los explantes en condiciones *in vitro* se evaluaron dos protocolos de desinfección, debido a que los procesos de asepsia superficial son importantes para mantener su viabilidad y facilitar la reactivación del crecimiento y el desarrollo [9]. El primer protocolo, en el que se evaluaron dos tratamientos con NaClO (1,0 % y 1,5 %), demostró que ambas concentraciones son adecuadas, debido a que no afectan la calidad de los explantes y que, además, no se contaminaron los medios con hongos o bacterias (figura 1a). Amulsifen *et al.* [10] obtuvieron resultados similares al evaluar protocolos de desinfección en granadilla silvestre *Passiflora foetida* L., en los que se usaron varias concentraciones de NaClO (0, 0,5, 1,0, 1,5 y 2,0 %), y se concluyó que al emplear NaClO a partir del 1,0 % se presenta un menor porcentaje de

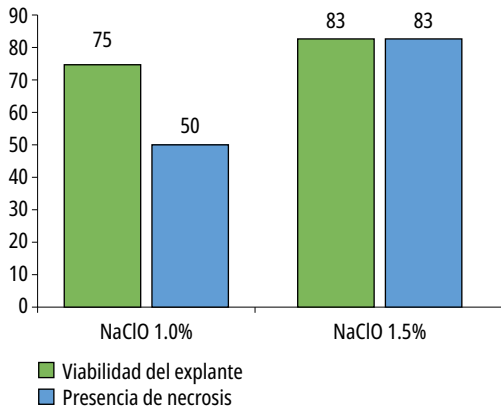
contaminación y buena reactivación del explante; esto concuerda con los resultados aquí obtenidos, en los que *P. edulis* y *P. mollissima* obtuvieron porcentajes superiores al 75 % de explantes viables.

La evaluación del segundo protocolo, T1 (NaClO a 2,0 %; I a 2,5 %) y T2 (NaClO a 2,5 %; I a 2,0 %), mostró la presencia de necrosis en los explantes de las dos especies, en más del 31 %. Sharry *et al.* [11] reconocen que uno de los problemas más comunes en los cultivos *in vitro* es la llamada oxidación (necrosis) o ennegrecimiento, el cual se manifiesta en el oscurecimiento del tejido vegetal, ocasionado por la oxidación de radicales libres, lo cual genera la necrosis y, por tanto, la muerte del tejido, lo que estaría relacionado con el estrés oxidativo que sufren las células cultivadas *in vitro*.

Por su parte, Suárez [12] indica que debido a la condición de crecimiento natural que tiene la planta madre, esta interactúa con algunos microorganismos que en condiciones de laboratorio se convierten en infecciosos o en agentes facilitadores de contaminación de los explantes. Sin embargo, con los tratamientos aquí realizados, la viabilidad de los explantes fue mayor al 44 %, lo que indica que algunos de los necrosados pudieron continuar con su crecimiento y desarrollo.

Respecto a la contaminación por microorganismos, se observaron hongos en *P. edulis*, en el tratamiento dos, mientras que las bacterias fueron comunes en ambos tratamientos, con presencia superior al 12 % de los explantes, excepto en el T1 de *P. edulis* (Figura 1b). Las bacterias se identificaron por la presencia de manchas de aspecto acuoso y coloración variada en el tejido vegetal, o por colonias en el medio de cultivo. Mientras que los hongos se caracterizaron por el crecimiento micelial que cubre el explante, o en el medio de cultivo, dando como resultado la muerte de los tejidos. La contaminación en el T1 de *P. edulis* fue nula, sin embargo, con este tratamiento, el 88 % de los explantes presentaron necrosis, y el 50 % fue viable; con esto se infiere que este tratamiento es efectivo contra los agentes contaminantes, pero causa daños en los explantes.

Figura 1a. Análisis de frecuencias para evaluación de necrosis y viabilidad del explante entre tratamientos T1: NaClO a 1,0 %, y T2: NaClO a 1,5 % del protocolo 1 de desinfección



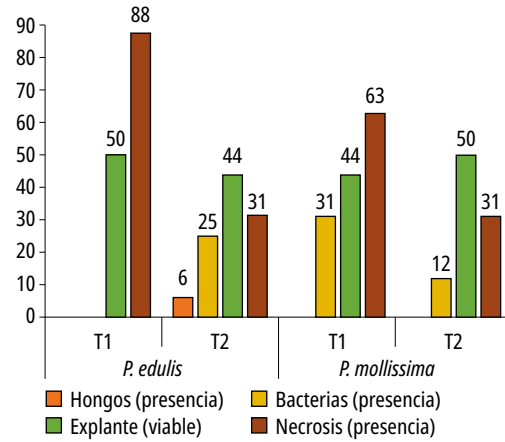
Fuente: elaboración propia.

Para la fase de propagación *in vitro* de las dos especies se usó el primer protocolo de desinfección, en el que se emplearon bajas concentraciones de NaClO (1,0 %), dado que este agente propició un buen desarrollo en el explante, controlando la contaminación por hongos y bacterias. El establecimiento de los cultivos *in vitro* en los que se variaron las concentraciones de BAP para la propagación del segmento foliar y nodal tanto de curuba como de maracuyá mostró diferencias según el tratamiento y el explante. A los 35 días de la siembra se pudieron evidenciar porcentajes superiores al 78 % de explantes necrosados en el segmento foliar de ambas especies, mientras que el segmento nodal presentó una mejor respuesta a los tratamientos, con porcentajes del 22 % de explantes necrosados.

Propagación *in vitro* a partir de segmento foliar

La propagación *in vitro* del segmento foliar bajo la influencia de las diferentes concentraciones de BAP, en las especies de maracuyá y curuba, reveló que no hubo crecimiento del segmento foliar en ninguno de los explantes. La formación de callo se observó solo en *P. edulis* en el tratamiento BAP1 y en el control en el 6 % de los explantes (figura 2); esto, probablemente, indica que el explante de esta

Figura 1b. Evaluación de los protocolos de dos tratamientos: T1: NaClO a 2,0 % y I a 2,5 %, y T2: NaClO a 2,5 % y I a 2,0 %, en los que se observa la presencia de hongos, bacterias, necrosis y explantes viables entre *P. mollissima* y *P. edulis*



especie es más reactivo a las concentraciones más bajas de BAP y al medio MS sin ninguna adición de fitohormona. Por su parte, la presencia de necrosis en los explantes fue mayor al 78 % en todos los tratamientos de ambas especies (figura 2).

Vásquez [13] estableció que en el segmento foliar de *P. maliformis*, la mayor cantidad de brotes fue obtenido con BAP a 0,3 y 0,6 mg/l; sin embargo, presentó un alto porcentaje de contaminación, y concluyó que las dosis con menor concentración de la citoquinina BAP genera una mayor efectividad en la formación de brotes de segmento foliar. Este comportamiento fue similar en el control y en BAP1 mg/L de esta investigación, ya que en los dos tratamientos aquí probados se formó callo en *P. edulis*; no obstante, predominaron los explantes necrosados.

Según Sharry *et al.* [11], la falta de respuesta de los explantes puede deberse a varios factores, como el genotipo de las células del explante, el cual puede generar una morfogénesis inactiva debido a los requerimientos nutricionales y hormonales; como la posición del explante y las condiciones ambientales (luz, temperatura, humedad y fase gaseosa), por lo tanto, se le atribuye la falta de reacción del segmento foliar a estas condiciones. No obstante, existen investigaciones en las que la micropropagación del

segmento foliar mostró resultados significativos, como la realizada por Parra y Cancino [14] en segmentos de hojas cotiledonarias de *P. mollissima*, en las que obtuvieron los mejores resultados con la suplementación de ácido 2,4- diclorofenoxiacético en concentración de 4,5 μ M, más BAP de 4,5 μ M, lo que demuestra que con la correcta regulación hormonal se pueden obtener mejores resultados en la formación de callos a partir de segmento foliar.

Por otro lado, Tuhaise [15] llevó a cabo el establecimiento *in vitro* de segmento foliar de *P. edulis* f. *flavicarpa* y *P. edulis* f. *edulis*, en medio MS y cuatro concentraciones de BAP (1,6, 1,8, 2,0

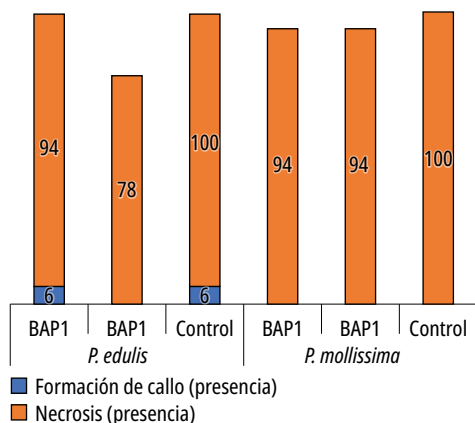
y 2,2 mg/L), para la inducción de brotes adventicios, sin embargo, los resultados fueron similares a los obtenidos en la presente investigación, en la que se observaron bajas frecuencias de inducción de brotes en *P. edulis* f. *flavicarpa* y ausencia total en *P. edulis* f. *edulis*. Por lo tanto, es probable que las concentraciones o el tipo de regulador de crecimiento BAP no pudo estimular la división celular y la organogénesis en las células de segmento foliar.

Propagación *in vitro* a partir de segmento nodal

La propagación *in vitro* del segmento nodal mostró diferencias en maracuyá y curuba, lo mismo que entre los tratamientos realizados. En el maracuyá hubo presencia de callos en todos los tratamientos, en más del 61 % de los explantes, mientras que en la curuba solo el 6 % de los explantes del tratamiento BAP1 presentaron callo. La formación de brotes se evidenció en más del 50 % de los explantes de todos los tratamientos de ambas especies. Sin embargo, en el maracuyá, la formación de brotes tuvo mejor respuesta, con porcentajes superiores al 72 % que en la curuba, igual que la presencia de hojas, debido a que en la curuba la presencia de hojas solo se observó en el tratamiento BAP2, en el 6 % de los explantes (figura 3).

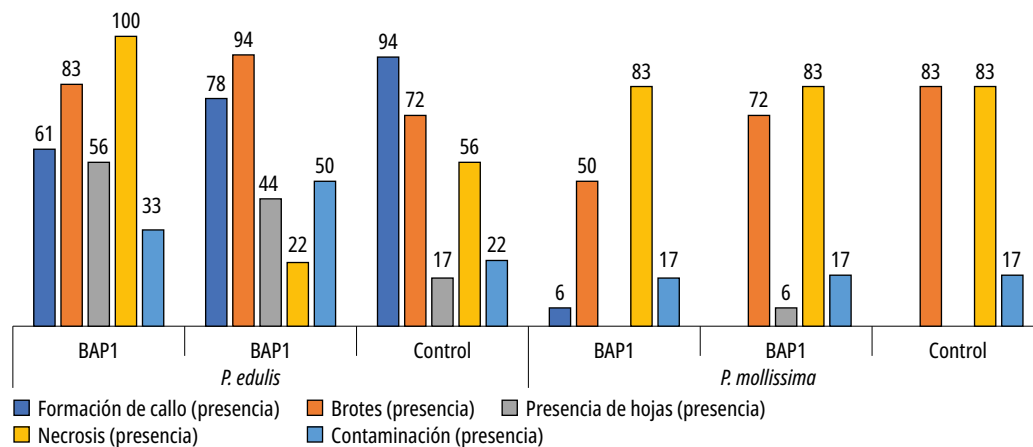
Respecto a la presencia de necrosis, el tratamiento BAP1 en el maracuyá generó que todos los explantes se necrosaran, pero en los tratamientos

Figura 2. Análisis de frecuencia de variables cualitativas del segmento foliar de *P. edulis* y *P. mollissima* en los tres tratamientos BAP1, BAP2 y blanco



Fuente: elaboración propia.

Figura 3. Análisis de frecuencias cualitativas del segmento nodal en *P. edulis* y *P. mollissima* por tratamientos BAP1, BAP2 y control



Fuente: elaboración propia.

BAP2 y control se presentaron menores porcentajes de explantes necrosados respecto a la curuba, en la que en todos los tratamientos se presentó un 83 % de los explantes necrosados, y un porcentaje de contaminación del 17 %; mientras que en el maracuyá se presentó un mayor porcentaje de contaminación en todos los tratamientos (>22 %) (figura 3).

El comportamiento de parámetros, como de número de brotes, de hojas verdes, hojas caídas y longitud del segmento de ambas especies por tratamiento se muestra en la figura 4. El maracuyá fue la especie que mejor respondió a todos los tratamientos, respecto a la curuba, la cual presentó formación de brotes desde la primera semana. La longitud del segmento fue mayor en BAP1, con 1,5 cm, seguido de BAP2 con 1,47 cm y el tratamiento control con 1,26 cm. Para el número de hojas, el tratamiento que presentó un comportamiento sobresaliente fue BAP1, con un promedio de 1,23 hojas, seguido de BAP2 con 1,11, mientras que el control presentó 0,39 hojas (figura 4).

Por otra parte, en los tratamientos BAP1 y control de la curuba no se presentaron hojas, mientras que en BAP2 las hojas que se generaron se cayeron en la semana cinco. El número de brotes y la longitud del segmento se incrementó gradualmente desde la primera semana, en la que el tratamiento BAP2 obtuvo una media de 1,29 cm, seguido del control con 1,24 cm y BAP1 con 1,18 cm. Así, BAP 2,0 mg/L es el tratamiento más efectivo para la producción de brotes, elongación del segmento y hojas de *P. mollissima*. Esto concuerda con los estudios realizados por Faria *et al.* [16], en los que se comparó el establecimiento *in vitro*, utilizando segmento nodal de tres géneros de *Passiflora*, *P. edulis*, *P. giberti* y *P. laurifolia*; *P. edulis*, independiente del medio de cultivo, fue la especie que presentó un mejor crecimiento, demostrando que con esta metodología la especie obtiene mejores respuestas al tratamiento. Asimismo, Anand *et al.* [17] observaron que explantes de segmento nodal en *Passiflora foetida* L. obtuvieron una excelente generación de brotes múltiples con el BAP 2,0 mg/L + KN 1,0 mg/L, con un 85 % de sobrevivencia, lo cual es un protocolo potencialmente valioso para la propagación de estas plantas, lo que concuerda con la concentración de BAP que generó mejor

respuesta en la formación de hojas, brotes y longitud en *P. mollissima* y en *P. edulis*.

Igualmente, Manjarrés y Perea [18] obtuvieron los primeros brotes de segmento nodal en *Passiflora edulis* Sims a los primeros ocho días de evaluación, utilizando la BAP 4,44 mg/L y 4,65 mg/L de KN, en la que se observa que las concentraciones intermedias de fitohormonas como BAP y KN son las más adecuadas para el crecimiento y vigorosidad del explante; por esta razón, en la presente investigación se escogieron las concentraciones de 1,0 y 2,0 mg/l BAP, por las que en maracuyá también se evidenciaron brotes a partir de los ocho días y en curuba a partir de la segunda semana.

Asimismo, Villalobos *et al.* [19] trabajaron con segmento nodal de *P. edulis* f. *flavicarpa*, indicando que el medio de cultivo más adecuado es con 1,0 mg/L Benciladenina (BA) +0,2 mg/L ANA para la multiplicación de microtallos o segmento nodal de esta especie con un 35,16 % de microtallos formados, mientras que en el presente estudio, con la misma adición de 1 mg/L de BAP, se obtuvieron en *P. mollissima* un 83 % y en *P. edulis* con un 72 % en formación de brotes, demostrando que se obtienen mejores resultados con la citocinina BAP que con BA.

Sin embargo, en la presente investigación, *P. mollissima* respondió mejor a concentraciones más bajas o ausencia de fitohormona; esto se evidencia en que en el control se obtuvo un 84 % de formación de brotes, mientras que BAP 1,0 mg/L consiguió solo 72 %. Resultados similares alcanzó Ortiz [20] en segmentos nodales de *P. edulis*, con los que mostró que a bajas concentraciones de BAP es más eficiente la formación de brotes, con un 97 %. Esto concuerda con el trabajo de Palacios [21] con segmentos nodales de *P. mollissima*, en el que se concluye que a medida que se incrementan los niveles de BAP, el segmento decrece. Por lo tanto, la mejor respuesta de los segmentos nodales para la formación de brotes se da sin la aplicación de fitohormonas, lo que demuestra que el uso de hormonas no genera un efecto significativo en el crecimiento del explante. Por consiguiente, la formación y crecimiento de brotes, probablemente, se debe a niveles hormonales

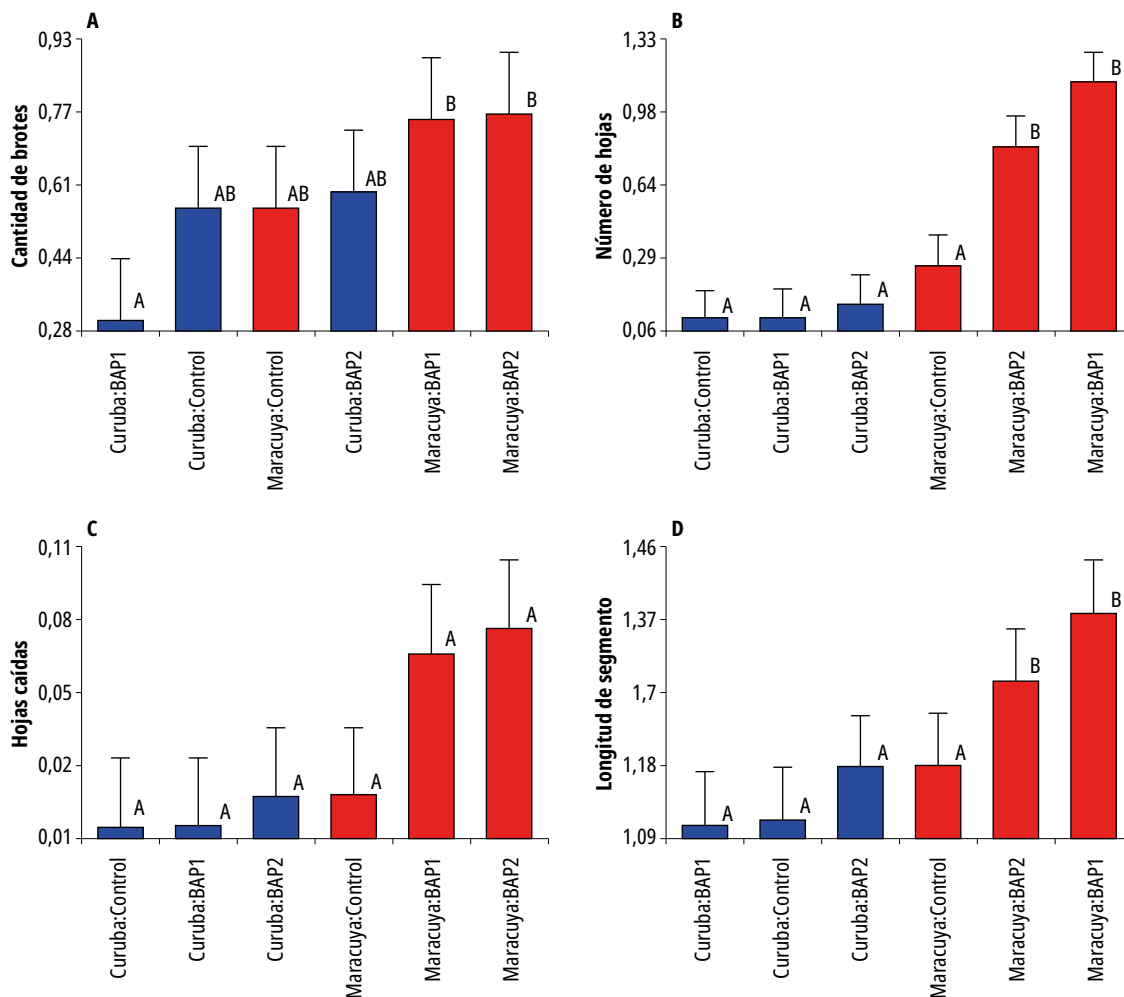
endógenos propios del explante y al efecto del medio utilizado.

Por su parte, el crecimiento, multiplicación celular y vigorosidad de los diferentes tipos de segmentos, ya sea nodal, foliar o yemas, entre otros, requiere del uso de concentraciones bajas de la citoquinina BAP. Faria *et al.* [21] realizaron la propagación *in vitro* de *Passiflora caerulea* utilizando segmento nodal en medio básico MS con el 50 %, y el 100 % sin ninguna adición de regulador de crecimiento, con lo que la longitud de brotes alcanzó los 2,15 cm, y en hojas formadas un promedio de 1,93 en medio de cultivo MS con el 50 %. Estos

valores son superiores a los obtenidos en el presente estudio, en el que con *P. mollissima* se obtuvo un promedio de longitud del segmento de 1,29 cm, mientras que en *P. edulis* fue de 1,47 cm, valores inferiores respecto a los obtenidos por Faria *et al.* [21].

Según Sharry *et al.* [11], las causas de brotes cortos es el uso de hormonas vegetales y reguladores de crecimiento muy fuertes, por lo tanto, se sugiere disminuir las concentraciones u omitir los reguladores, debido a que el exceso de BAP puede generar, además, hojas pequeñas y pálidas, baja tasa de multiplicación y vitrificación, entre otras.

Figura 4. Medias y prueba de Tukey de las variables, cantidad de brotes (B), número de hojas (NH), hojas caídas (HC) y longitud del segmento (LS), en la semana cinco, de acuerdo con el tratamiento (BAP1, BAP2 y control) en los segmentos nodales de maracuyá y curuba



Fuente: elaboración propia.

En el análisis de varianza (tabla 2) se observa que hay diferencias significativas en el número de hojas entre los tratamientos y la especie. Igualmente, las hojas caídas también presentaron diferencias relevantes entre las especies, destacándose el maracuyá por presentar un mayor número de hojas, lo que generó un número superior de hojas caídas; en cuanto a la longitud del segmento, se observaron diferencias entre las especies, siendo el maracuyá la que presentó una mayor longitud con respecto a la curuba (tabla 2).

Tabla 2. Análisis de varianza de la evaluación del segmento nodal entre *P. edulis* y *P. mollissima* en la semana cinco, para Error tipo I

Fuente de variación	Cuadrados medios				
	GL	B	NH	HC	LS
Tratamiento	2	0,06	0,51**	4,00E-03	0,03
Especie	1	0,32	3,82**	0,02**	0,17**
Tratamiento* Especie	2	0,12	0,48**	0,0025	0,03
Error	24	0,09	0,09	3,60E-03	0,02
Total	29				

GL: grados de libertad, B: cantidad de brotes, NH: número de hojas, HC: hojas caídas, LS: longitud del segmento, valores con cantidades** estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

Fuente: elaboración propia.

Al evaluar el comportamiento de las especies frente a los tratamientos con BAP, se puede evidenciar que *P. edulis* fue la especie que mejor reaccionó al establecimiento *in vitro*, debido a que en el maracuyá se obtuvo una mayor cantidad de hojas y de longitud en el segmento a lo largo de las semanas de evaluación, mientras que en la curuba solo se presentó elongación y formación de brotes, sin embargo, ninguno llegó a convertirse en hojas. Asimismo, entre los tratamientos se puede observar que en la curuba el comportamiento más efectivo fue el BAP2, puesto que fue el que más aportó en la longitud del segmento y en la producción de hojas; en maracuyá fue el BAP1 el más efectivo en la formación de brotes, longitud del segmento y número de hojas.

Conclusiones

El protocolo de desinfección en el que se emplea NaClO a 1,0 y 1,5 % fue el más adecuado para la propagación de *P. mollissima* y *P. edulis*, sin embargo, la concentración al 1,0 % es la más apta para controlar la contaminación por hongos, bacterias y factores asociados con necrosis, lo cual favoreció el desarrollo de los explantes. Las concentraciones de BAP a 1,0 y 2,0 mg/l permiten la regeneración de los explantes de segmento nodal en curuba y maracuyá, sin embargo, no permitieron la respuesta en segmento foliar. Se pudo comprobar que para la obtención de callos, hojas y brotes, la mejor concentración es BAP 1,0 mg/l o el control, mientras que para la obtención de hojas es la BAP 2,0 mg/l; por tanto, se puede concluir que el segmento nodal fue el explante más apropiado para la propagación *in vitro* de curuba y maracuyá, ya que fue el que mejor reaccionó al establecimiento *in vitro* bajo los diferentes ensayos aplicados. El maracuyá se caracterizó por ser la especie más sobresaliente en el establecimiento *in vitro*, por su respuesta a la fitohormona BAP y al medio de cultivo MS, respecto a la curuba.

Agradecimientos

A la Universidad Incca de Colombia, en especial a la Facultad de Biología, por permitir el desarrollo de esta investigación con el préstamo de los laboratorios y la financiación de los reactivos utilizados.

Referencias

- [1] G. Fischer, L. M. Melgarejo y J. Cutler, "Pre-harvest factors that influence the quality of passion fruit: A review", *Agronomía Colombiana*, vol. 36(3), pp. 217-226, 2018, <https://doi.org/10.15446/agron.colomb.v36n3.71751>.
- [2] I. E. Duarte, D. Milenkovic, T. K. Borges, L. L. De Oliveira y A. M. Costa, "Brazilian passion fruit as a new healthy food: from its composition to health properties and mechanisms of action", *Food & Function*, vol. 12, n.º 22, pp. 11106-11120, 2021, <https://doi.org/10.1039/D1FO01976G>.
- [3] Minagricultura, Cadena del *Passifloras*, Indicadores e instrumentos, primer trimestre, 2021. Disponible en:

- <https://sioc.minagricultura.gov.co/Pasifloras/Documentos/2021-03-31%20Cifras%20Sectoriales.pdf>
- [4] B. M. Twaij, Z. H. Jazar y M. Hasan, “Trends in the use of tissue culture, applications and future aspects”, *International Journal of Plant Biology*, vol. 11, n.º 1, p. 8385, 2020, <https://doi.org/10.4081/pb.2020.8385>.
- [5] A. B. Ortiz, C. Capel, F. J. Yuste y M. T. Angosto, *Guía de procedimientos prácticos en Biotecnología Vegetal*, Editorial Universidad de Almería, pp. 1-82, 2020.
- [6] T. Murashige y F. Skoog, “A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture”, *Physiology Plant*, vol. 15, pp. 473-497, 1962, <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>.
- [7] J. Di Rienzo, F. Casanoves, M. G. Balzarini, L. González, M. Tablada y C. W. Robledo, *InfoStat*, versión 2020, Universidad Nacional de Córdoba: Córdoba, Argentina, 2020.
- [8] R. Team, *R: A language and environment for statistical computing*, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2020.
- [9] M. Agualimpia, S. Betancur y S. Serna, “Micropropagación *in vitro* de *Coffea arabica* variedad geisha (panamá) a partir de láminas foliares (embriogénesis somática) y evaluación del comportamiento de las vitroplantas en invernadero geodésico”, *Journal of Research of the University of Quindío*, vol. 34, 2022.
- [10] A. H. Amulsifen, A. A. Curaca, A. C. Lázaro y H. D. Pillasca, “Establecimiento *in vitro* de granadilla silvestre (*Passiflora foetida* L.) a partir de yemas axilares”, *Big Bang Faustiniiano*, vol. 8 n.º 4, 2019, <https://doi.org/10.51431/bbf.v8i4.555>.
- [11] S. Sharry, *Plantas de probeta*, Editorial de la Universidad Nacional de La Plata (EDULP), 2015. ISBN 978-950-34-1254-1. Disponible en: <https://rid.unrn.edu.ar/handle/20.500.12049/2366>.
- [12] I. E. Suárez, *Cultivo de tejidos vegetales*, Fondo de la Editorial Universidad de Córdoba, 2020.
- [13] D. M. Vásquez, *Efecto de la bencil amino purina en la inducción de brotes de Passiflora maliformis L. (Cholupa)*, Universidad de Pamplona, 2016. Disponible en: <http://repositoriodspace.unipamplona.edu.co/jspui/handle/20.500.12744/631>.
- [14] O. J. Parra y G. O. Cancino, “Evaluation of induction of somatic embryogenesis from cotyledonary leaves of Banana Passion fruit (*Passiflora mollissima*) L. H Bailey”, *Respuestas Journal of Engineering Science*, vol. 24, n.º 1, pp. 31-38, 2019, <https://doi.org/10.22463/0122820X.1847>.
- [15] S. Tuhaise, J. L. Nakavuma, J. Adriko, K. Ssekatawa y A. Kiggundu “In vitro regeneration of Ugandan passion fruit cultivars from leaf discs”, *BMC Research Notes*, vol. 12, n.º 1, pp. 425, 2019, <https://doi.org/10.1186/s13104-019-4469-8>.
- [16] G. A. Faria, A. B. Peixoto, A. R. Morais, T. F. Costa, C. M. Oliveira, B. G. Lopes, P. S. Rocha, T. A. Oliveira y L. M. Felizardo, “Tamanho ótimo de parcelas para experimentos de estabelecimento *in vitro* em espécies do gênero *Passiflora*”, *Research, Society and Development*, vol. 9, n.º 10, e8859109354, 2020, <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i10.9354>.
- [17] S. P. Anand, E. Jayakumar, R. Jeyachandran, V. Nandagobalan y A. Doss, “Direct organogenesis of *Passiflora foetida* L. through nodal explants”, *Plant Tissue Culture and Biotechnology*, vol. 22, n.º 1, pp. 87-91, 2012, <https://doi.org/10.3329/ptcb.v22i1.11266>.
- [18] E. H. Manjarrés y M. Perea, “Establecimiento de un protocolo de propagación de gulupa (*Passiflora edulis sims.*) a partir de embriones cigóticos y yemas axilares”, *Agronomía*, vol. 20, n.º 2, pp. 53-64, 2012. Disponible en: [http://agronomia.ucaldas.edu.co/downloads/Agronomia20\(2\)_7.pdf](http://agronomia.ucaldas.edu.co/downloads/Agronomia20(2)_7.pdf).
- [19] R. Villalobos, T. E. Vargas y E. García, “Cultivo de microesquejes de parchita (*Passiflora edulis Sims f. flavicarpa Deg.*)”, *Revista Científica UDO Agrícola*, vol. 9 n.º 2, pp. 327-332, 2009. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3308268>.
- [20] L. P. Ortiz, *Evaluación del crecimiento *in vitro* de maracuyá amarilla (*Passiflora edulis sims forma Flavicarpa*) a partir de segmentos nodales mediante la técnica de organogénesis*, Universidad de Santander, 2019. Disponible en: <https://repositorio.udes.edu.co/handle/001/3759>.
- [21] J. L. Palacios, *Establecimiento *in vitro* de tumbo serrano (*Passiflora mollissima* (Kunth)L.H. Bailey) en el laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Facultad de Ciencias Agropecuarias*, Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, Tacna, Perú, 2015. Disponible en: <https://repositorio.unjbg.edu.pe/server/api/core/bitstreams/9a5a49e3-b4b1-46ce-970d-377e92dfbb9a/content>.
- [22] G. A. Faria, C. M. Oliveira, B. G. Lopes, P. S. Rocha, G. M. Peron, K. S. Souza, C. K. García, E. Furlani, J. C. Cavichioli y L. M. Felizardo, “Establecimiento de protocolo para propagação *in vitro* de *Passiflora caerulea*”, *Research, Society and Development*, vol. 9, n.º 9, e157997158, 2020, <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i9.7158>

