

EFFECTO DE LA ESTRATIFICACION SOBRE LA GERMINACION DE SEMILLAS
DE BADEA (*Passiflora quadrangularis* L.)

Trabajo de grado presentado como requisito para optar el titulo

De

Profesional Agrónomo

CAMILO ERNESTO ROA NIETO

DIRECTOR

CARLOS CARRANZA

Línea de investigación:

Biodiversidad y recursos genéticos

UNIVERSIDAD NACIONAL ABIERTA Y A DISTANCIA "UNAD"
ESCUELA DE CIENCIAS AGRARIAS PECUARIAS Y DEL MEDIO AMBIENTE

Bogotá, Colombia

2017

CONTENIDO

RESUMEN.....	1
1. INTRODUCCION	2
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	4
3. OBJETIVOS.....	5
3.2 ESPECÍFICOS.....	5
4. JUSTIFICACIÓN.....	6
5. MARCO TEÓRICO	7
5.1. GERMINACIÓN	8
OTROS FACTORES QUE INFLUYES EN LA GERMINACION DE SEMILLAS.....	8
5.2. LATENCIA EN SEMILLAS	8
5.2.2. OTROS TIPOS DE LATENCIA	9
5.3. TEMPERATURA EN GERMINACIÓN DE SEMILLAS.....	10
5.31. LA LUZ EN LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS.....	11
5.1.3 FOTOBLASTISMO:.....	12
5.4. TRATAMIENTOS PREGERMINATIVOS.....	13
5.4.1. ESTRATIFICACIÓN	13
5.4.2. ESTRATIFICACIÓN FRÍA.....	13
5.4.3. ESTRATIFICACIÓN CÁLIDA.....	14
5.5. ESTUDIOS DE ESTRATIFICACIÓN EN PASIFLORAS	14
5.6. GIBERELINAS.....	15
6. MATERIALES Y METODOS.....	16
6.3. CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DE LOS FRUTOS	16
6.4. PRUEBA DE VIABILIDAD	17
6.5. CONTENIDO DE HUMEDAD	18

6.6. DISEÑO EXPERIMENTAL	18
6.7. TRATAMIENTO ESTRATIFICACIÓN FRÍA	18
6.8. TRATAMIENTO ESTRATIFICACIÓN CÁLIDA	19
6.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	20
7. RESULTADOS Y ANÁLISIS.	21
7.1. CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA DE FRUTOS	21
7.2. ANÁLISIS DE VIABILIDAD.....	21
7.3. CONTENIDO DE HUMEDAD	22
7.4. TRATAMIENTO ESTRATIFICACIÓN FRÍA A 10°C Y ESTRATIFICACIÓN CALIDA A 35°C.....	22
7.5. PORCENTAJE DE GERMINACIÓN (PG)	23
7.6. TIEMPO MEDIO DE GERMINACIÓN (TMG).....	25
7.7. VELOCIDAD MEDIA DE GERMINACIÓN (VMG)	28
8. CONCLUSIONES	31
9. BIBLIOGRAFIA	32
10. ANEXO FOTOGRAFICO.....	43

Resumen

La badea es una de las especies priorizadas en la cadena de las Pasifloras por su potencial exportador. Las semillas de badea presentan un porcentaje de germinación bajo menor al 30% en relación con otras especies del género *Passiflora*. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la estratificación sobre la germinación de badea en condiciones controladas. Los frutos fueron recolectados en fincas de productores de badea en el municipio de Neiva en el departamento del Huila y llevados al Laboratorio Biología y Microbiología de la sede José Celestino Mutis de la Universidad Nacional Abierta y a Distancia (Bogotá) donde se realizó la caracterización físico-química de los frutos. Se realizaron pruebas de viabilidad y el contenido de humedad de las semillas. Se tomaron 1200 semillas distribuidas en bandejas de 200 alveolos, utilizando como sustrato turba Klassman[®], previamente desinfectada y humedecidas a capacidad de campo. Se empleó un diseño experimental completamente aleatorizado con cuatro tratamientos, tres tiempos de estratificación (10, 20 y 30 d) a una temperatura de 10°C y tapadas con plástico negro y un testigo, después de cada tiempo se colocaron en cámara de germinación (Incubadora Memmert in 110) a 35°C durante un tiempo de 30 d, con tres repeticiones. En las evaluaciones se calculó el porcentaje de germinación (PG), la velocidad media de germinación (VMG), el tiempo medio de germinación (TMG). En el tratamiento de estratificación con un tiempo de 30 d a 10°C presentó un mayor PG con 42,25% mayor VMG con 19,22 semillas/día y un menor TMG con 25,32 d. Estos resultados indican en que las semillas de badea poseen una latencia fisiología intermedia, el cual por un mayor tiempo de estratificación a una temperatura de 87uy10°C se puede incrementar la síntesis de giberelinas en las semillas. Estos resultados contribuyen a mejorar los protocolos de propagación por parte de los viveras y productores de badea.

Palabras clave: latencia, frio, porcentaje de germinación, producción.

1. Introduccion

La familia Passifloraceae está constituida por 18 géneros y 630 especies distribuidos en las zonas tropicales y subtropicales, de los Andes (Holm-Nielsen *et al.*, 1988.Vanderplanck, 2000; Barrios, 2005). Las variedades pertenecientes a esta familia aún no han sido descritas en su totalidad y la mayoría de estas son nativas o endémicas de regiones tropicales del continente americano, lo que ha dado origen a una variabilidad intra e inter específica entre los miembros de esta familia (Vanderplanck, 2000.Viana *et al.*, 2003). Se distribuye desde el nivel del mar hasta altitudes superiores a 3.000 m.s.n.m y están adaptadas a un amplio rango de climas (0- 40°C). (Vanderplanck, 2000)

Según (Feuillet, 2003) la clasificación de esta familia es:

Reino Plantae

División Magnoliophyta

Clase Magnoliopsida

Orden Violales

Familia Passifloraceae

Genero Passiflora

Su interés económico se centra en la producción y comercialización de los frutos, su potencial farmacéutico y como plantas ornamentales (Hernández y Bernal, 2000). Se sabe que el 90% de las 630 especies de passifloras son originarias de América (Escobar, 1988). En Colombia se han inventariado 164 especies, 58 de ellas se han considerado como endémicas, la región que presenta mayor diversidad es la región cafetera con un 59%. Sin embargo, uno de los grandes problemas que enfrentan estas plantas es la fragmentación de las selvas andinas, lo cual genera que muchas especies se encuentren catalogadas como especies en peligro de extinción (Hernández y Bernal, 2000; Ocampo *et al.*, 2007).

La propagación del cultivo de las pasifloras en general, se realiza comúnmente por semilla y esto se debe entre otras ventajas a la facilidad de este método, al mayor vigor de las plantas originadas de semillas y a la variabilidad genética de los huertos reproducidos de esta forma (Cárdenas, 2011), concuerda en que

existen pocos registros sobre germinación en *Passiflora* spp; sin embargo, se ha demostrado que las semillas presentan latencia en algunas especies de esta familia como: *P. edulis* f. *flavicarpa*, *P. incarnata* L., *P. mollissima* (Kunth) L.H. Bailey y *P. nitida* Kunth (Balaguera *et al.*, 2010), *P. quadrangularis* L. (Carranza *et al.*, 2016). Las semillas de *P. edulis* Sims. f. *flavicarpa* muestran diferentes grados de latencia, registrando germinaciones en periodos que van desde los 15 hasta los 45 días (Balaguera *et al.*, 2010).

Teniendo en cuenta la gran importancia práctica de la reproducción sexual en las Pasifloras, los estudios realizados sobre germinación en estas especies son pocos.

En Colombia el cultivo de la badea tiene una viabilidad grande en cuanto a su producción y comercialización dentro de las frutas tropicales o exóticas de exportación (FAO, 2005), lo cual se debe al sabor dulce y ligeramente ácido, presentando un aroma agradable como lo es característico de las frutas de la pasión.

En Colombia las exportaciones crecieron a un ritmo de 20% al pasar de 4.908 toneladas en 2014 a 7.925 toneladas en 2016. Los países de la Unión Europea son en su conjunto, los mayores consumidores de fruta del mundo y es allí donde se evidencia el crecimiento del consumo de las frutas exóticas.(Ministerio de Agricultura. 2017).

2. Planteamiento del problema

La propagación del cultivo de las pasifloras en general, se realiza comúnmente por semilla y esto se debe entre otras ventajas a la facilidad de este método, al mayor vigor de las plantas originadas de semillas y a la variabilidad genética de los huertos reproducidos de esta forma (Cárdenas, 2011), uno de los principales problemas de la germinación en badea es la presencia de germinación errática a través de tiempos muy prolongados para germinar, bajos porcentajes de germinación y desuniformidad en el desarrollo de las plántulas, lo que crea dificultad en su manejo.

Un adecuado proceso de germinación reduce pérdidas, al utilizar una menor cantidad de semilla y materiales para alcanzar un determinado porcentaje y homogeneidad de germinación para el establecimiento del cultivo.

De todo esto surge la necesidad de investigar los posibles métodos pre germinativos, que permitan un incremento significativo, en la tasa de germinación en *Passiflora quadrangularis* L., con el fin de ayudar a los viveristas y agricultores a superar este limitante en el establecimiento del cultivo.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo General

Evaluar el efecto de la estratificación sobre la germinación de semillas de badea (*Passiflora quadrangularis* L.)

3.2 Específicos

- Determinar las características físico-químicas de los frutos de badea y la viabilidad de las semillas del municipio de Neiva Huila.
- Determinar los efectos de la estratificación fría, sobre la germinación en semillas de (*Passiflora quadrangularis* L.) en condiciones controladas.

4. Justificación

Una característica de las pasiflora, está en la fisiología de su unidad reproductiva, la semilla que posee un alto grado de dureza y permeabilidad de su testa, impidiendo la absorción de agua, por lo cual se obtiene índices negativos y variables en el tiempo de germinación (Balaguera *et al.*, 2010).

Existen pocos registros sobre germinación en *Passiflora* spp; sin embargo, se ha demostrado que las semillas presentan latencia en algunas especies de esta familia como: *P. edulis* f. *flavicarpa*, *P. incarnata* L., *P. mollissima* (Kunth) L.H. Bailey y *P. nitida* Kunth (Balaguera *et al.*, 2010) Las semillas de *P. edulis* Sims. f. *flavicarpa* muestran diferentes grados de latencia, registrando germinaciones en periodos que van desde los 15 hasta los 45 días (Balaguera *et al.*, 2010)

Mediante esta investigación, se evaluó, el método de estratificación con el objetivo de obtener una mayor expresión de las variables en calidad fisiológica (porcentaje de germinación y viabilidad).

Los resultados obtenidos se presentan como una alternativa, en el proceso de germinación. Que puede ser aplicado por los productores, buscando una mayor expresión en la producción de plántulas, reduciendo los índices de pérdida, en el materia del proceso de bancos o vivero, homogenizando los periodos de germinación y obteniendo, una mayor información que pueda comprender mejor la ecología de la semilla en *Passiflora quadrangularis* L, en su proceso germinativo.

5. Marco teórico

Colombia es el país con la mayor riqueza de Pasiflorácea, con 167 especies que se encuentran concentradas en la región Andina, principalmente en los departamentos de Antioquia, Valle del Cauca, Cundinamarca, Quindío, Risaralda y Caldas (Ocampo *et al.*, 2007).

En el país se conocen dos variedades de badea, la primera es la del Chocó y la segunda es la badea gigante; la primera se caracteriza por ser un fruto mediano de 10 a 15 cm de largo, su pulpa es delgada y la planta presenta un follaje escaso, a diferencia de la segunda variedad. La badea gigante, se caracteriza por presentar un tamaño mayor de 10-25 cm de largo, coloración verde con tonalidades amarillas, el pericarpio es grueso de color blanco, sin embargo estas características no determinan la comercialización del fruto, ya que el mercado nacional acepta estas dos variedades indistintamente (Reina *et al.*, 1996).

Esta fruta recibe diferentes nombres a nivel nacional como internacional, de las cuales se destaca como tumbo (Perú), parcha (Venezuela), maracuyá melao (Brasil) y granadilla gigante (USA) (Vanderplanck, 2000; MacDougal y Feuillet, 2004; Yoctkteng *et al.*, 2011).

En la producción Nacional, los departamentos que se han destacado hasta la actualidad son los de Choco, Santander y Huila. En la Tabla 1, se presenta la evolución en la producción de badea, a nivel Nacional.

Tabla 1. Produccion Nacional de Badea (*Passiflora quadrangularis* L.).

Año	Área (ha)	Produccion (t)
2013	76	1.109,80
2014	106,50	1.586,00
2015	142,05	2.280,80

Fuente Evaluaciones Agropecuarias Municipales, (Agronet, 2015).

Sobresaliendo para el año 2015 el departamento de Santander con una producción de 1,049,80 t, pasando del 23% en producción del año 2012, a una participación del 46,03% de la producción nacional, el departamento del Huila obtuvo una producción de 12,31 t, su participación nacional fue del 53,97%, el incremento de la producción nacional para el año 2015, fue del 43,80% (Agronet, 2015).

5.1. Germinación

La germinación de semillas es un proceso en el cual se generan cambios morfológicos y fisiológicos que terminan en el crecimiento del embrión (Miransari y Smith, 2014). La germinación requiere de condiciones específicas de temperatura, niveles de oxígeno y luz, con las proporciones adecuadas para cada especie (Corbineau *et al.*, 2014). La semilla absorbe agua, lo que resulta en expansión y elongación del embrión. Cuando la radícula crece fuera de la testa el proceso de germinación ha terminado (Hermann *et al.*, 2007).

Otros Factores que Influyen en la Germinación de Semillas.

5.2. Latencia en Semillas

Las semillas latentes, son aquellas que se hallan en un estado fisiológico, en el cual, permanecen viables, pero no pueden germinar, incluso, en condiciones ambientales favorables. Esto evita que la germinación se produzca en condiciones donde la sobrevivencia de las plántulas se vea amenazada (Balaguera *et al.*, 2010).

Cuando la latencia se debe a condiciones de la testa, el letargo termina en el momento en que ésta se agrieta o debilita por acciones mecánicas o químicas (escarificación) o por efecto del medio ambiente (Madueño-Molina *et al.*, 2006), reportan que esta situación es frecuente en gran número de familias de plantas, en las que la testa y/o secciones endurecidas de otras cubiertas son impermeables, debido a que en la superficie exterior se forma una capa gruesa, revestida de sustancias cerosas y tejido esclerenquimático (Balaguera *et al.*, 2010).

Algunas investigaciones en el caso de las pasifloras, muestran que varias especies presentan latencia química (inhibidores en la cubierta) y mecánica (cubiertas endurecidas) de semillas, como *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg. (Alexandre *et al.*, 2004), *P. mollissima* (La Rosa, 1984) y *P. nítida* Kunth (Passos *et al.*, 2004), debido a ello se presenta bajo porcentaje en germinación, a consecuencia de estas cubiertas, se hace indispensable realizar tratamientos pre germinativos, que nos concedan romper la latencia que permitan una germinación uniforme y en menor tiempo (Balaguera *et al.*, 2010).

5.2.1. Latencia interna

Es la latencia o el letargo propiamente dichos. Muchas semillas requieren cambios químicos complejos en su interior para poder germinar; estos cambios son inducidos por su exposición a la luz o a condiciones bajas de temperatura. Un método artificial para lograr la ruptura de la latencia es la estratificación que consiste en colocar las semillas en estratos mezcladas con arena y a bajas temperaturas. A veces los períodos de estratificación deben ser dos, para romper un doble letargo interno y externo, por lo que en la naturaleza esas semillas tardan dos años en germinar, la estratificación se emplea para inducir procesos fisiológicos en el embrión que son necesarios a la germinación (Doria *et al.*, 2010).

5.2.2. Otros tipos de latencia

Según investigaciones en pasifloras son:

Latencia química (inhibidores en la cubierta) y mecánica (cubiertas endurecidas) de semillas, como *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg. (Alexandre *et al.*, 2004), *P. mollissima* (La Rosa, 1984) y *P. nítida* Kunth (Passos *et al.*, 2004), debido a ello se presenta bajo porcentaje en germinación, a consecuencia de estas cubiertas, se hace indispensable realizar tratamientos pre germinativos, que nos concedan romper la latencia que permitan una germinación uniforme y en menor tiempo (Balaguera *et al.*, 2010).

Las semillas pueden presentar latencia al momento de ser dispersadas de la planta, latencia primaria o, desarrollarla, debido a las condiciones ambientales, latencia secundaria. Para el primer caso, puede ser, por una parte, exógena:

producida por factores externos al embrión; física, puesto que muestra testa impermeable; mecánica, donde la testa es dura e impide la protrusión de la radícula; química, cuando hay inhibidores en la testa o pericarpo y, por otra, endógena: causada por factores a nivel del embrión; puede ser dividida en morfológica, ocasionada por el poco desarrollo del embrión, que está relacionada con el componente hormonal (Balaguera *et al.*, 2010).

Para salir de la latencia de las semillas se utilizan tratamientos pregerminativos como es la estratificación lo cual prevalece y supera la latencia en que se encuentra el embrión y es incapaz de germinar con normalidad (Finch-Savage y Leubner-Metzger, 2006).

5.3. Temperatura en germinación de semillas

La temperatura es considerada uno de los factores más importantes en la germinación de la mayoría de las especies vegetales (Probert, 2000).

La temperatura influye sobre el porcentaje final, la velocidad y la uniformidad de la germinación, sobre la absorción de agua por las semillas y por tanto, sobre las reacciones bioquímicas que participan en el proceso. Así, la germinación solo ocurrirá dentro de determinados límites de temperatura donde el proceso ocurre con máxima eficiencia.

Las temperaturas alternas favorecen la germinación de un gran número de especies, ya que asemejan lo que ocurre en la naturaleza donde las temperaturas diurnas son más altas que las nocturnas; al respecto existen algunas hipótesis que intentan explicar esta situación, sin embargo ninguna es totalmente satisfactoria (Carvalho y Nakagawa, 1988; Osipi y Nakagawa, 2005). En algunas especies, la alternancia de temperatura parece afectar principalmente los niveles de germinación y la uniformidad, pero en muchas otras son bien claros los efectos sobre la inducción de la liberación de la latencia, existiendo algunas que exigen puntualmente esta condición ambiental (Osipi y Nakagawa, 2005).

En cuanto a la temperatura de las passifloras, para el caso de maracuyá se aconseja realizar la prueba de germinación a temperatura alterna 30/20°C (Osipi, 2000). Igualmente, la alternancia de temperatura entre 25 y 35°C favorece la germinación de semillas *P. caerulea* L. previamente escarificadas (Severin *et al.*, 2004).

Se ha demostrado que la temperatura afecta la concentración de y la sensibilidad a GA (Derkx y Karssen, 1993; Yamaguchi *et al.*, 2004), la tasa de reversión en la oscuridad

5.31. La luz en la germinación de semillas

La luz promueve o inhibe la germinación de semillas en algunas especies. Entre las semillas sensibles, aquellas que son inhibidas por la luz son denominadas fotoblásticas negativas (Salisbury y Ross, 1992). La influencia de la luz es ejercida por el efecto de longitud de onda (calidad), intensidad y por la duración (fotoperíodo) (Bewley y Black, 1985). En las semillas fotosensibles, el fitocromo es el fotoreceptor principalmente asociado con la captación y transmisión del estímulo bajo la forma activa (Pfr) (Frankland, 1981).

La inhibición de la germinación debida a la luz se presenta principalmente en semillas de especies no domesticadas (Salisbury y Ross, 1992). El número de especies herbáceas que presentan germinación fotoblástica negativa es muy reducido (Baskin y Baskin, 1988).

La luz promueve o inhibe la germinación de semillas en algunas especies. Entre las semillas sensibles, aquellas que son inhibidas por la luz son denominadas fotoblásticas negativas (Salisbury y Ross, 1992). La influencia de la luz es ejercida por el efecto de longitud de onda (calidad), intensidad y por la duración (fotoperíodo) (Bewley y Black, 1985). En las semillas fotosensibles, el fitocromo es el fotoreceptor principalmente asociado con la captación y transmisión del estímulo bajo la forma activa (Pfr) (Frankland, 1981).

La inhibición de la germinación debida a la luz se presenta principalmente en semillas de especies no domesticadas (Salisbury y Ross, 1992). El número de especies herbáceas que presentan germinación fotoblástica negativa es muy reducido (Baskin y Baskin, 1988). Sin embargo, la germinación ha mostrado ser inhibida por la luz en numerosas especies cultivadas (Maciel y Bautista, 1997; Nau, 1989).

5.1.3 Fotoblastismo:

Respuesta de las semillas a la luz. Las semillas son fotoblásticas positivas cuando requieren luz para germinar y fotoblásticas negativas cuando su germinación se inhibe con la luz. Existen muchas semillas que son insensibles a la luz y se denominan indiferentes (Takaki. *et al.*,2001.).

Es importante para la germinación, en algunas especies, el efecto inductor de la luz, lo cual se denomina fotoblastismo; este permite el mantenimiento de la latencia en las simientes enterradas en el suelo (Sawada *et al.*, 2008).

No es muy usual que la germinación se vea influenciada negativamente por la luz; sin embargo esto ocurre en especies de diferentes familias y entre ellas las pasifloras (Kulkarni *et al.*, 2006). Las semillas de *P. incarnata* L. son fotoblásticas negativas y altamente exigentes en cuanto a requerimientos de calor. El mayor porcentaje (90%) de germinación, se logra a 35°C; respectivamente (Benvenuti *et al.*, 2001).

Otra pasiflora con este comportamiento es *P. cincinnata* Mast., en la cual, la luz parece ejercer un efecto inhibitorio sobre la germinación, ya que las semillas fueron germinadas a temperaturas alternas 20-30°C; las semillas que brotan en la oscuridad muestran el máximo de germinación en la oscuridad, registrando 14,4% de germinación, mientras que bajo las mismas condiciones, pero sometiendo las semillas a la luz, el porcentaje máximo de germinación fue de 3,2% (Zucareli *et al.*, 2009). Los resultados para estas especies y, especialmente, para *P. edulis*, concuerdan con las reglas para el análisis de semillas (Brasil, 2009), en las que se indica que el test de germinación, se debe hacer en ausencia de luz.

5.4. Tratamientos pregerminativos

5.4.1. Estratificación

El tratamiento se utiliza para romper la latencia fisiológica, y consiste en colocar las semillas entre sustratos que conservan la humedad, comúnmente arena o bien turba o vermiculita, en frío o calor (Patiño *et al.*, 1983; Hartmann y Kester, 1977; Hartmann y Kester, 1988, Donoso, 1993).

5.4.2. Estratificación fría

La estratificación fría es aquella donde se mantienen las semillas a temperaturas bajas, asemejando a las condiciones de invierno, por un período que oscila entre 20 y 60 días, llegando inclusive hasta 120 días (Ordoñez 1987, García, 1991).

Generalmente la estratificación en frío consiste en disponer las semillas junto a un medio que conserve la humedad, arena o turba, y almacenarlas en un recipiente plástico con tapa al frío, durante un periodo de tiempo que varía de unas pocas semanas a unos meses. La temperatura es considerada uno de los factores más importantes en la germinación de la mayoría de las especies vegetales. Los resultados sugieren que la estratificación en frío actúa como un promotor de la germinación y se puede deber a adaptaciones al ambiente natural, en los cuales, se originó la especie (Manjkhola *et al.*, 2003).

5.4.3. Estratificación cálida

En el caso de la estratificación cálida, esta se basa en la necesidad de las semillas de estar sometidas a altas temperaturas para poder germinar. En este caso la temperatura empleada oscila entre los 22 y 30°C, con un período de estratificación entre los 30 y 60 días (Patiño *et al.*, 1983; Hartmann y Kester, 1988; Figueroa y Jaksic, 2004).

5.5. Estudios de Estratificación en Pasifloras

Se ha reportado que la estratificación fría aumenta la síntesis de giberelinas y disminuye la concentración de inhibidores de germinación en las semillas, como el ácido abscísico (ABA) (Kulkarni *et al.*, 2006). La exposición al frío degrada el ABA presente en las semillas a ácido fáséico y dihidroxifáséico, que son compuestos inactivos, lo que, a su vez, aumenta la relación GA₃/ABA, para que ocurra la germinación (Balaguera *et al.*, 2010). Del mismo modo, Balaguera *et al.* (2010) con la estratificación en frío (4°C) y cubrimiento de la semilla de *P. edulis f. edulis*, obtuvieron los mayores porcentajes de germinación >80%.

La estratificación, permite superar la latencia relacionada con la presencia de un embrión inmaduro que es incapaz de germinar con normalidad (Baskin y Baskin, 2001), debido a que promueve el incremento transitorio de la concentración de giberelinas y citoquininas en las semillas (Solís, 2006). El aumento de las giberelinas endógenas, como resultado de la estratificación, estimula la germinación de semillas y además se ha reportado que favorece la reducción de ácido abscísico (ABA) (Bewley, 1994). La estratificación en altas temperaturas (entre 22 y 30°C) o a bajas temperaturas (entre 0 y 8°C) consiste en colocar las semillas en un sustrato húmedo durante un periodo de tiempo que sea adecuado para la especie (Baskin, 2002).

Estudios realizados en o anonáceas como chirimoya y guanábana, indican que la latencia puede superarse con la aplicación simultánea de estratificación húmeda caliente en un periodo mayor a 90 d y adición exógena de giberelinas (Lobo *et al.*, 2007).

La estratificación causa cambios metabólicos y fisiológicos en la semilla que involucran tanto al embrión como a las capas que lo recubren (Leubner-Metzger, 2005). Chien *et al.* (1998) reportaron que la estratificación cálida induce la maduración de los embriones poco desarrollados lo que permite superar la latencia morfológica. Mientras tanto, la estratificación fría promueve el crecimiento del embrión, reduce la sensibilidad y el contenido de ácido abscísico y simultáneamente incrementa la concentración y sensibilidad de las semillas al ácido giberélico (AG3) lo que supera la latencia fisiológica (Bewley y Black, 1994).

Los resultados sugieren que la estratificación en frío actúa como un promotor de la germinación y se puede deber a adaptaciones al ambiente natural, en los cuales, se originó la especie (Balaguera *et al.*, 2010).

5.6. Giberelinas

Las giberelinas (GAs) son un conjunto de compuestos químicos naturales con actividad reguladora del crecimiento y el desarrollo de plantas. Las GAs controlan diversos procesos del desarrollo de las plantas tales como la germinación de semillas, la elongación del tallo, la expansión de las hojas, el desarrollo de los tricomas y la introducción del desarrollo de flores y frutos (Sponsel y Hedden, 2004).

Las giberelinas se sintetizan en todas las partes de la planta, pero especialmente en el ápice del tallo y hojas jóvenes. También se puede encontrar grandes cantidades de giberelinas en los embriones, semillas y frutos (Rojas, 1987).

Inducen la síntesis de amilasa en las semillas en germinación, posibilitando que el almidón pase a glucosa, que es respirada y libera la energía necesaria para el desarrollo del embrión (Rojas, 1987).

Según (Bewley, 1994) las giberelinas estimulan la germinación, induciendo las enzimas hidrolíticas a debilitar la cubierta seminal, que se opone a presentar emergencia radicular y estimula la emergencia del cotiledón.

6. Materiales y Metodos

6.1. Ubicación

El ensayo se estableció en el laboratorio Biología y Microbiología de la Universidad Nacional Abierta y a Distancia, sede Bogotá.

6.2. Material Vegetal (germoplasma)

Se colectaron 12 frutos, traídos del municipio de Neiva en el departamento de Huila.

6.3. Caracterización Físico-Química De Los Frutos

En el laboratorio de Biología de la Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), se evaluaron las características de los frutos seleccionados, se obtuvieron las cualidades físicas como peso, diámetro polar y ecuatorial, volumen, número total de semillas, en los aspectos químicos de pH, grados Brix, se tomaron las medidas de acidez titulable con una solución decinomonormal en (0,1N) de NaOH, tomamos la neutralidad con C₂₀H₁₄O₄ (fenolftaleína) con indicador de cambio de tonalidad a naranja/rosado o en el punto pH 8,2 y se utilizó la fórmula para Acidez.

$$(\%) \text{ Acidez} = \frac{A \times B \times C \times 100}{W}$$

Dónde:

A = mL de NaOH

B = Normalidad de NaOH

C = Peso equivalente del ácido

W = Peso de la muestra en mg o mL

Se extrajo la pulpa de los frutos y se colocó en recipiente de vidrio para su fermentación durante 48 h. Una vez fermentada la pulpa, las semillas fueron extraídas manualmente, se colocaron sobre papel periódico y se dejaron secar a la sombra durante 48 h, fueron almacenaron en cajas Petri y se mantuvieron a temperatura ambiente, para su posterior uso en los ensayos de germinación (Rivera *et al.*, 2002).

Se realizó desinfección de la turba Klassman® para evitar la presencia de patógenos con Vitavax (2 g L⁻¹). Las semillas se desinfectaron por inmersión en hipoclorito de sodio al 1% durante 10 min y lavadas con agua destilada.

6.4. Prueba De Viabilidad

Para definir las condiciones de la prueba de viabilidad se someterán las semillas a dos cortes longitudinal y lateral y se dejaron las semillas en soluciones de 1 y 0,5% de cloruro de trifeniltetrazolio a 30 y a 32°C, por 2, 4, 6, 12, 24 y 48 h. En las pruebas de viabilidad se seguirán las normas ISTA (1996), tomando 100 semillas como unidad experimental, distribuidas en dos submuestras de 50 semillas y cuatro repeticiones por tratamiento, para un total de 400 semillas por tratamiento. El total de semillas requerido para el ensayo fue de 1.600.

Se determinó el porcentaje de viabilidad, para cada replica a través de la siguiente formula según Fernández y Johnston, (1986):

$$\text{Viabilidad:} = \frac{\text{Mitades en tincion}}{\text{mitades totales}} \times 100$$

Posteriormente se realizó un promedio, de las cuatro réplicas para obtener un porcentaje definitivo de la viabilidad de las semillas de *Passiflora quadrangularis* L.

6.5. Contenido de Humedad

Se utilizó el analizador de humedad Marca OHAUS MB25[®]. En la cual se combinan tecnología de calentamiento de última generación, con sistemas de peso muy exactos, obteniendo por resultado una técnica eficaz y rápida para determinar la humedad, utilizando el principio de pérdida de peso por secado (estándar para determinar la humedad), la balanza automática pesa una muestra, la seca, mide la pérdida de peso producto del secado y calcula el contenido de humedad de las semillas o muestra, el análisis termina, cuando el ciclo de secado termina y se haya estabilizado el peso seco (Rao, 2007). Según la formula:

$$\text{Contenido de humedad \%} = \frac{\text{peso fresco} - \text{peso seco}}{\text{peso seco}} \times 100$$

6.6. Diseño experimental

Se empleó un diseño experimental completamente aleatorizado con cuatro tratamientos: tres tiempos (10, 20 y 30 d) a una temperatura de 10°C y un testigo con tres repeticiones y posteriormente fueron llevados a una incubadora (Memmert in 110[®]) a 35°C por un tiempo de 30 d.

6.7. Tratamiento Estratificación Fría

Se tomaron 1200 semillas distribuidas en bandejas de 200 alveolos, utilizando como sustrato turba Klassman[®], previamente desinfectada y humedecidas a capacidad de campo. Se distribuyeron en tres tiempos de refrigeración, en 10, 20, y 30 días a una temperatura de 10°C (Tabla 2), cubiertas con plásticos negros.

6.8. Tratamiento Estratificación Cálida

Cumplidos los periodos establecidos, en cada grupo evaluado, fueron siendo pasados, durante tres horas a temperatura ambiente, para luego ser sometidas a cámara de crecimiento a una temperatura de 35°C por un periodo total de 30 días (Tabla 2).

Tabla 2. Diseño de los tratamientos húmeda fría (EHF) y húmeda caliente (EHC).

Tratamiento	Tiempo (días)	EHF	EHC
T1 (Control)	30		35°C
T2	10	10°C	35°C
T3	20	10°C	35°C
T4	30	10°C	35°C

Se realizaron observaciones cada 3 d durante 30 d para revisar el proceso de germinación. Se registraron como semillas germinadas cuando estuvieron en protrusión radicular y alargamiento de la radícula mayor a 2 mm.

Luego de las observaciones se calculó el porcentaje de germinación (PG), la velocidad media de germinación (VMG), el tiempo medio de germinación (TMG) frecuencia de Germinación (Tabla 3).

Tabla 3. Fórmulas utilizadas para el cálculo de variables de estudio.

Variable	Formula
Porcentaje de germinación	$PG = \text{No. de semillas germinadas} / \text{No. de semillas incubadas}$
Velocidad media de germinación (VMG)	$(VMG) = P1/T1 + P2/T2 + \dots + Pn/Tn$
Tiempo medio de germinación (TMG)	$(TMG) = ((x1 \cdot d1) + (x2 \cdot d2) + \dots + (xn \cdot dn)) / Xn$

Dónde: P = número de semillas germinadas; T = tiempo germinación; n = día último control; x1, x2, x15 = semillas germinadas día 1, 2,...n; d1, d2,...dn = días incubación, Xi = semillas germinadas por día de revisión y Xn = número total de semillas germinadas el último día de control. Fuente: Ranal y García De Santana, 2006.

6.9. Análisis Estadístico

Se realizó una prueba de normalidad Shapiro-Wilks ($P \leq 0,05$), si no, presenta tendencia normal, se realizó una transformación de datos y posteriormente un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de comparación de medias múltiples de diferencias mínimas significativas ($P \leq 0,05$) con el paquete estadístico SAS V9.2.7.

7. Resultados y Análisis.

7.1. Caracterización fisicoquímica de frutos

En la caracterización fisicoquímica de los frutos de badea se obtuvo, el promedio en el diámetro polar fue de 22,3 cm en el diámetro ecuatorial 12,9 cm, en la relación diámetro polar/diámetro ecuatorial 1.728, peso del fruto ($1.475,2 \pm 176,0$ g), peso de la cascara ($227,03 \pm 25,10$ g), el peso de la pulpa ($1.245,3 \pm 137,7$ g) el contenido de grados Brix ($14.5 \pm 0,65$ g), el pH ($3,66 \pm 10$), la acidez ($3.9135,21 \pm 345,24$), el número de semillas (262 ± 15) y el peso de las semillas ($13,01 \pm 0,8$ g).

El porcentaje de la cascara corresponde a un total de 15,62%

El porcentaje de la pulpa corresponde a un total de 84,38%

7.2. Análisis de Viabilidad

Se encontró en los tratamientos realizados un porcentaje total de viabilidad del 86%.

Se clasificó como semillas viables, las que denotaron una coloración fuerte en los cotiledones y embrión. Las semillas sometidas a la prueba de tetrazolium se observó en intensa tinción, podríamos asegurar, en el caso de cultivos un excelente establecimiento en el campo. De ahí que los valores obtenidos en la prueba de viabilidad, podrían hacer deducir el comportamiento de esta especie en campo. Con lo anterior determinamos que las semillas obtenidas, son adecuadas para el desarrollo de la investigación.

7.3. Contenido de humedad

Las semillas presentaron un contenido de humedad del 23,25%. Este contenido de humedad nos indica el estado de madurez fisiológica y su calidad.

Las semillas del género pasiflora se consideran ortodoxas, sin embargo la tolerancia a la deshidratación es diferente en cada especie. Por ejemplo, las semillas de maracuyá, soportan un 11% de humedad sin que su viabilidad se vea afectada, mientras que las de granadilla soportan hasta un 9%, lo que significaría que muestran un comportamiento más ortodoxo que las de maracuyá (Ospina *et al.*, 2000).

El contenido de humedad sirve como indicador de madurez fisiológica de las semillas, ya que las semillas durante la primera fase de maduración aumentan su peso fresco debido al ingreso del agua y a la asimilación de nutrientes, pero después de que las semillas alcanzan su máximo peso fresco el contenido de humedad tiende a bajar debido a que pasa a una fase donde hay tolerancia a la desecación. Por lo tanto, cuando hay menor porcentaje de humedad entre la semilla, se indica que su madurez fisiológica es mayor.

7.4. Tratamiento Estratificación Fria A 10°C Y Estratificación Calida A 35°C

En la Tabla 4, se presentan los resultados del análisis de varianza, donde se presentó diferencia significativa entre los tratamientos para las tres variables evaluadas.

Tabla 4. Análisis de varianza y prueba de medias multiple de diferencias mínimas significativas ($P < 0,05$).

Tratamiento	Porcentaje de germinación (PG)		Velocidad media de germinación (VMG)		Tiempo medio de germinación (TMG)	
T1 (Control)	2,25±0,35	A	1,10±0,14	A	25,05±0,07	A
T2	3,00±0,70	A	1,05±0,23	A	26,62±0,13	C
T3	19,00±4,24	B	8,03±1,82	B	25,76±0,06	B
T4	42,25±4,59	C	19,22±0,91	C	25,32±0,29	AB

7.5. Porcentaje De Germinación (PG)

En el PG se presentó diferencias significativas en el tratamiento T4, con temperatura de 10°C durante 30 días para un total de 720 horas frío, con un mayor PG con 42,25±4,59 % (Figura 1), en relación con los demás tratamientos evaluados. El tiempo frío influyó en el PG, incrementando la germinación en la semillas de *Passiflora quadrangularis* L., en relación con el testigo que fue baja y errática, se confirma la presencia de latencia endógena, impuesta por factores a nivel embrional y puede ser dividida en morfológica (embrión sin desarrollar o estado de madurez incompleta) y fisiológica (factores internos del embrión), (Hartmann et al., 1997).

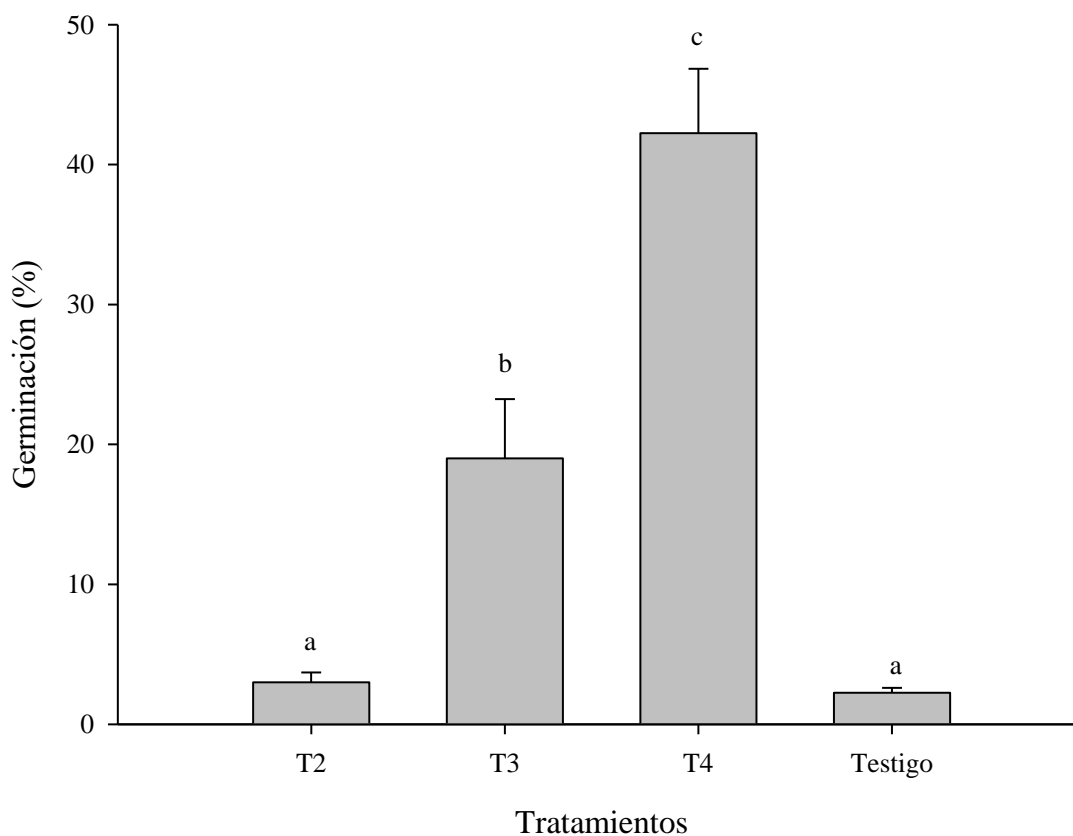


Figura 1. Comportamiento del porcentaje de germinación para los tratamientos con estratificación fría y caliente.

La estratificación en frío promueve la germinación, producto de las adaptaciones en el ambiente natural originaria de la especie (Manjkhola, 2003).

Se ha reportado que la estratificación fría aumenta la síntesis de giberelinas y disminuye la concentración de inhibidores de germinación en las semillas, como el ácido abscísico (ABA) (Kulkarni, 2006). La exposición al frío degrada el ABA presente en las semillas a ácido faséico y dihidroxifaséico, que son compuestos inactivos, lo que, a su vez, aumenta la relación GA_3/ABA , para que ocurra la germinación (Davies, 2004).

Las GA₃ presenta un efecto para activar el sistema enzimático del embrión y tiene efecto positivo en la estratificación fría o de luz sobre la germinación de diferentes tipos de semillas caracterizadas por tener latencia fisiológica (Balaguera *et al.*, 2010).

Estos resultados fueron menores que los obtenidos por Carranza *et al.* (2016), con la utilización de fitorreguladores giberelinas a 1.200 ppm y nitrato de potasio al 4%, es probable que se deba al proceso de imbibición y a la concentración de GA₃, influyendo en una positiva respuesta en la germinación. Los nitratos han sido reportados por varios autores (Nonogak y Bewley, 2010; Carranza *et al.*, 2016), ellos podrían estimular la germinación a través de otras vías, como las implicadas en el metabolismo de las hormonas o después de haber sido reducidos a nitrito, pudiendo acelerar el flujo metabólico a través de la vía de las pentosas fosfato al incrementar indirectamente la oxidación de NADPH actuando, así como un componente importante de traducción de señales.

7.6. Tiempo medio de germinación (TMG)

En la Figura 2, se presentaron diferencias significativas en los tratamientos evaluados para la variable TMG, con un menor tiempo el tratamiento control (T1), con $25,05 \pm 0,07$ similar comportamiento con el tratamiento T4 con $25,32 \pm 0,29$, en el tratamiento T2, se obtuvo el mayor tiempo con $26,62 \pm 0,13$, lo cual nos indica el TMG para alcanzar una 50% de la germinación de las semillas en un tiempo de 25 a 26 días.

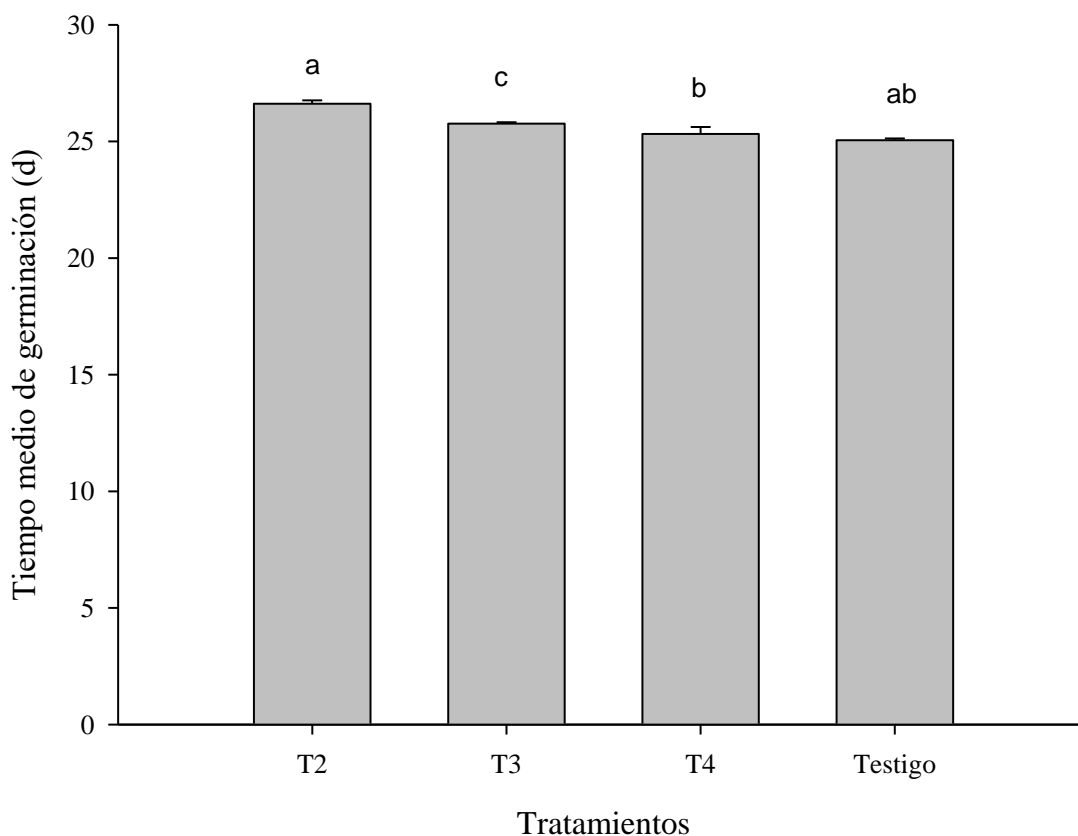


Figura 2. Comportamiento del tiempo medio de germinación para los tratamientos con estratificación fría y caliente.

Autores como (Bewley, 1994) concluyen que la germinación de las semillas solo se presenta en límites bien definidos de temperatura, y que estos límites son característicos de cada especie, por lo que se requiere determinar las temperaturas mínima, óptima y máxima, siendo la temperatura óptima aquella donde se alcanza el máximo porcentaje de germinación en menor tiempo (Vilar, 2005).

Cárdenas *et al.* (2010) reportaron que las semillas dormantes de *Passiflora* spp. requieren escarificación y temperatura alterna (20/30°C) para promover la germinación. La alternancia de temperatura puede producir cambios físicos en

la cubierta de las semillas que favorecen la absorción de agua e inducen la germinación (Balaguera *et al.*, 2010).

La temperatura influye sobre el porcentaje final, la velocidad y uniformidad de la germinación, sobre la absorción de agua por la semilla y por tanto, sobre las reacciones bioquímicas que participan en el proceso de germinación (Osipi y Nakagawa, 2005).

Estos resultados están de acuerdo con Miranda *et al.* (2009) quienes recomiendan para la germinación de semillas de pasifloras en general, temperaturas alternas entre 30 y 20°C y con la temperatura recomendada para la germinación de otras pasifloras (Brasil, 2009).

El resultado obtenido en esta variable dio un menor TMG, que los resultado obtenidos por (Balanguera *et al.*, 2010) en semillas de *Passiflora edulis* Sims, sometidas a 360h de estratificación a 4°C, con un tiempo medio de germinación de 19,7, días.

Según los resultados obtenidos (Cardenas *et al.*, 2010), El factor más determinante en la germinación de las semillas de *P. ligularis*, fue la temperatura, independientemente de la accesión, las condiciones de luz, la aplicación exógena de GA3 o escarificación mecánica; son factores que afectan la germinación de esta especie de acuerdo con las condiciones de temperatura, mostrando mejores resultados a 30/20°C en todos los casos.

7.7. Velocidad Media De Germinación (VMG)

Se presentó mayor VMG (Figura 2) en los tratamientos T4 con $19,22 \pm 0,91$ semillas/día seguido por el T3 con $8,03 \pm 1,82$ semillas/día, los tratamientos T1 (control) con $1,10 \pm 0,14$ y T2 con $1,05 \pm 0,23$ no presentaron diferencias significativas. La VMG se incremento en referencia al tiempo de duración en la estratificación. Estos resultados se dieron con un mayor tiempo de exposición a condiciones frías (10°C) con un aumento de las concentraciones de GA_3 en la semilla. Los tratamientos con estratificación favorece la activación de GA_3 y los procesos metabólicos de la semilla. La pérdida de poder germinativo se ha reportado para otras pasifloras, como *P. edulis*, mientras *P. alata* no presenta problemas con el almacenamiento (Osipi y Nakagawa, 2005; Alves *et al.*, 2006).

Los resultados obtenidos en esta investigación, para la variable VMG, fueron superiores a los reportados por (Balanguera *et al.*, 2010) en semillas de *Passiflora edulis* Sims, sometidas a 360 h de estratificación a 4°C , con cobertura, plástico negro, de 0,69 en 360 horas frío y 0,24 a 720 horas frío.

En otras pasifloras como la granadilla se han encontrado en la técnica de estratificación que concentraciones de 400 ppm de GA_3 y KNO_3 al 0,1% presentaron los mejores porcentajes de germinación (Cárdenas, 2011).

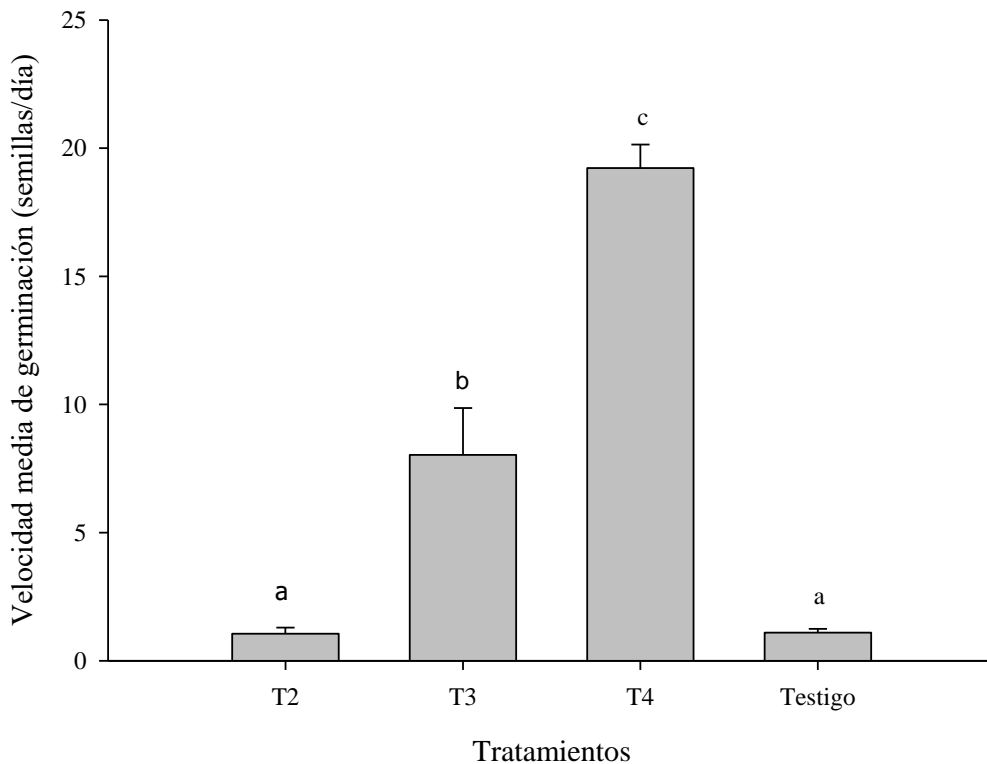


Figura 3. Comportamiento de la velocidad media de germinación para los tratamientos con estratificación fría y caliente.

Es probable en las semillas de los tratamientos con menor VMG, no se generó la activación metabólica necesaria en las semillas, para iniciar el proceso de germinación, de igual forma la estratificación en el caso del tratamiento T2, no generó la ruptura de la latencia reportada para *Passiflora quadrangularis* L, tiempo inferiores a 240 horas frías no son suficientes en la regulación de GA₃/ABA, necesaria para que ocurra la germinación (Davies, 2004)

El ABA y las giberélinas son necesarias para la iniciación de la latencia y la germinación de las semillas, respectivamente (Groot y Karssen, 1992; Matilla y Matilla-Vázquez, 2008). El balance GA₃/ABA determina la habilidad de las semillas para germinar o las vías necesarias para la germinación (White *et al.*, 2000; White y Rivin, 2000; Chibani *et al.*, 2006; Finch-Savage y Leubner-

Metzger, 2006). El N puede inhibir la latencia en la semilla al disminuir los niveles de ABA en la semilla (Ali-Rachedi *et al.*, 2004; Finkelstein *et al.*, 2008).

Carranza *et al.* (2016), reportaron que con el uso de reguladores de crecimiento sobre la germinación de semillas de badea (*Passiflora quadrangularis* L.) en condiciones de invernadero, incrementaron la velocidad de germinación, con la aplicación exógena de 1.200 ppm de GA₃ y 0,4% de KNO₃ con 6,55 y 6,39 semillas/día

La estratificación causa cambios metabólicos y fisiológicos en la semilla que involucran tanto al embrión como a las capas que lo recubren (Leubner-Metzger, 2005). Chien *et al.* (1998) reportaron que la estratificación cálida induce la maduración de los embriones poco desarrollados lo que permite superar la latencia morfológica. Mientras tanto, la estratificación fría promueve el crecimiento del embrión, reduce la sensibilidad y el contenido de ácido abscísico y simultáneamente incrementa la concentración y sensibilidad de las semillas al ácido giberélico (AG₃) lo que supera la latencia fisiológica (Bewley, 1994).

8. CONCLUSIONES

- La estratificación fría por un tiempo de 30 días a 10°C, permitió la ruptura de la latencia con un mayor porcentaje de germinación, velocidad media de germinación y un menor tiempo medio de germinación.
- Las semillas de badea con exposición al frío incrementaron los niveles de GA₃ endógena, por lo cual se puede confirmar que se presenta una latencia de tipo fisiológica.

9. Bibliografia

- Alexandre, R.S., A.W. Júnior, J.R.S. Negreiros, A. Parizzotto y C.H. Bruckner. (2004). Germinação de sementes de genótipos de maracujazeiro. Pesquisa Agropec. Bras. 39, 1239-1245. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2004001200011>
- AGRONET. (2015). Evaluaciones Agropecuarias del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Recuperado de: <http://www.agronet.gov.co/estadistica/Paginas/default.aspx>.
- Ali-Rachedi, S., D. Bouinot, M.H. Wagner, M. Bonnet, B. Sotta, P. Grappin y M. Jullien. (2004). Changes in endogenous abscisic acid levels during dormancy release and maintenance of mature seeds: studies with the Cape Verde Islands ecotype the dormant model of *Arabidopsis thaliana*. *Planta* 219, 479-488. Doi: 10.1007/ s00425-004-1251-4
- Alves, C.Z., M.E. De Sá, L. Correa y F. Binotti. (2006). Efeito da temperatura de armazenamento e de fitorreguladores na germinacao de sementes de maracujá doce e desenvolvimento iniiial e mudas. *Acta Sci. Agron.* (Brasil). 28(3), 441-448.
- Balaguera, H.E., J.G. Alvarez y J. Cardenas. (2010). Efecto de la estratificación fría y la cobertura plastica en semillas de gulupa (*Passiflora edulis* Sims.) para la obtención de plantulas. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 13(2), 89-97.
- Barrios, L.A. (2005). Estudios de la diversidad de Passifloraceae en los departamentos de Caldas, Choco, Nariño, Quindio y Valle de Cauca (Colombia), apoyando en los análisis ecogeográficos, palinológicos y citogenéticas. Universidad Nacional de Colombia. Departamento de Agronomía.

- Baskin, C. y J.M. Baskin. 1988. Germination ecophysiology of habaceus plant species in temperate region. *Amer. J. Bot.* 75(2), 286-305.
- Baskin, C. y J.M. Baskin. (2001). *Ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination*. Academic Press. San Diego, CA, USA. 666 p.
- Baskin, C.C., O. Zackrisson y J.M. Baskin. (2002). Role of warm stratification in promoting germination of seeds of *Empetrum hermaphroditum* (Empetraceae), a circumboreal species with a stony endocarp. *Amer. J. Bot.* 89 (3), 486 - 493.
- Benvenuti, S., G. Simonelli y M. Macchia. (2001). Elevated temperature and darkness improve germination in *Passiflora incarnata* L. seed. *Seed Science and Technology* 29, 533-541.
- Bernardo, R., A. L Miranda. y A. M Nieto,. (2002). *Manejo Integral del Cultivo de Granadilla*. Manizales: Litoas.
- Bewley, J. D. And M. Black. 1985. *Seeds. Physiology of development and germination*. Plenum Publishing Publications. New York, USA. 587 p.
- Bewley, J.Y. (1994). *Physiology of development and germination*. New York, NY.: Plenum Press.
- Bradberr, J. (1988). *The Breaking of Seed Dormancy*. Philadelphia: Blackie and Son Ltd.
- BRASIL. 2009. *Regras para Análise de Sementes*. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Departamento Nacional de Produção Vegetal. Coordenação de Laboratório Vegetal. Brasília, DF, (Brasil). 395p.

- Cárdenas, J., C. Carranza, D. Miranda y S. Magnitskiy. (2013). Effect of GA₃, KNO₃, and removing of basal point of seeds on germination of sweet granadilla (*Passiflora ligularis* Juss) and yellow passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). Rev. Bras. Frutic., 35(3), 853-859. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-29452013000300023>
- Carranza, C., G. Castellanos, D. Deaza y D. Miranda. (2016). Efecto de la aplicación de reguladores de crecimiento. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas* 10(2), 284-291. Doi: <http://dx.doi.org/10.17584/rcch.2016v10i2.5791>
- Carvalho, N.M. y J. Nakagawa. (1988). *Sementes: ciência, tecnologia e produção*. 3.ed. Campinas: Fundação Cargill. 424p
- Chibani, K., S. Ali-Rachedi, C. Job, D. Job, M. Jullien y P. Grappin. (2006). Proteomic analysis of seed dormancy in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 142, 1493-1510. Doi: 10.1104/pp.106.087452
- Chien, C., L. Kuo-Huang y T.P. Lin. (1998). Changes in ultrastructure and abscisic acid level, and response to applied gibberellins in *Taxus mairei* seeds treated with warm and cold stratification. *Ann. Bot.* 81, 41-47.
- Corbineau, F., Q. Xia, C. Bailly y H. El-Maarouf-Bouteau. (2014). Ethylene, a key factor in the regulation of seed dormancy. *Front. Plant Sci.* 5, 1-13. Doi: 10.3389/fpls.2014.00539
- Davies. (2004). *Plants hormones. First Ed.* Unites States: Kluner Academis.750 p.
- Derkx, M.P.M. y C.M. Karssen. (1993). Effects of light and temperature on seed dormancy and gibberellins stimulated germination in *Arabidopsis thaliana*:

studies with gibberellin-deficient and – intensive mutants. *Physiologia plantarum* 89, 360-368.

Donoso, C. (1993). *Bosques Templados de Chile y Argentina. Variación, Estructura y Dinámica*. Editorial Universitaria, Santiago de Chile. 483 pp.

Doria, J. (2010). Generalidades sobre las semillas: su producción, conservación y almacenamiento. *cultivos tropicales*, 31(1), 00. Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362010000100011&lng=es&tlng=es.

Escobar, L.K (1988). *Flora de Colombia. 10. Passifloraceae*. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, 135 pp.

FAO. (2005). *Commodities and trade division, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Roma*.

Fernandez, H., y M. Johnston (1986). “Fisiología Vegetal Experimental”. IICA, serie de libros y materiales educativos # 58. San José (Costa Rica). 347, 408-409 p.

Feuillet, C. y J. MacDougal. (2003). A new infrageneric classification of *Passiflora* L. (Passifloraceae) *Passiflora*. 13 (2), 34–38.

Figueroa, J. y F. Jaksic. (2004). Latencia y banco de semillas en plantas de la región mediterránea de Chile central. *Revista Chilena de Historia Natural* 77, 201-215

Finch-Savage, W. y G. Leubner-Metzger. (2006). Seed dormancy and the control of germination. *New Phytol.* 171, 501-523. Doi: 10.1104/pp.106.0874

- Finkelstein, R., W. Reeves, T. Ariizumi y C. Steber. (2008). Molecular aspects of seed dormancy. *Ann. Rev. Plant Biol.* 59, 387-415. Doi: 0.1146/annurev.arplant.59.032607.092740
- FRANKLAND B. (1981). Germination in shade. In: *Plants and the Daylight Spectrum*. H. Smith (ed.). Academic Press. London. U. K. pp. 222-247.
- García, J. (1991). *Manual de Repoblaciones Forestales. Tomo I*. Esc. Técnica Superior de Ingenieros de Montes. Fund. Conde del Valle de Salazar. Madrid-España. 794 p
- Groot, S.P.C. y C.M. Karssen. (1992). Dormancy and germination of abscisic acid deficient tomato seeds: studies with the sitiens mutant. *Plant Physiol.* 99, 952-958. Doi: 10.1104/pp.99.3.952
- Cárdenas, J. (2011). Morfología y tratamientos pregerminativos de semillas de granadilla (*Passiflora ligularis* Juss.). Trabajo de grado de Maestría, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá. 110 p.
- Hartmann, H. y Kester, D. (1988). *Propagación de Plantas*. México D.F. Compañía Editorial Continental, S.A. de C.V. 760 pp. Kemp, 1975
- Hartmann, H., Kester, D., & Davies, F. (1997.). *Plant Propagation: Principles and Practices*. New Jersey: Prentice Hall International.
- Hernández, A. y Bernal, R. (2000). Lista de especies de Passifloraceae de Colombia. *Biota Colombiana* 1(3), 320- 335.
- Holm-Nielsen, L.B., Jorgensen P.M. y Lawesson J.E. (1988) Passifloraceae. En: Harling y L. Andersson (eds.), *Flora of Ecuador* 31, 124 pp

- ISTA. (1996). International Seed Testing Association. International rules for seed testing. *Seed Sci. Technol.* 24 (Supplement). pp. 1-343.
- Kulkarni, M.G., S.G. Sparg y J. van Staden. (2006). Dark conditioning, cold stratification and a smoke-derived compound enhance the germination of *Eucomis autumnalis* subsp. *autumnalis* seeds. *South African J. Botany* 72(1), 157-162. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2005.06.006>.
- La Rosa, A.M. (1984). The biology and ecology of *Passiflora mollissima* in Hawaii. Cooperative National Park Resources Studies Unit. Tech. Report. 50p.
- Leubner-Metzger. 2005. Beta-1,3-Glucanase gene expression low-hydrated seeds as a mechanism for dormancy release during tobacco after-ripening. *Plant J.* 41, 133-145.
- MacDougal, J.M. y C. Feuillet. (2004). *Systematics*. In: Ulmer T, MacDougal JM (eds) *Passiflora, passionflowers of the world*. Timber, Portland, OR, USA, 27-31
- Madueño-Molina, A.; García-Paredes, D.; J Martínez-Hernández,.; C Rubio-Torres,.; Navarrete-Valencia, A.; J Bojórquez-Serrano,. (2006). Germinación de semilla de frijolillo, *Rhynchosia minima* (L) Dc., luego de someterla a tratamientos pregerminativos. *Bioagro* 18(2): 101-105.
- Manjkhola, S., U. Dhary R.S. Rawal. (2003). Treatment to improve seed germination of *Arnebia benthamii*; an endangered medicinal herb of high altitude in Himalaya. *Seed Sci. Technol.* 31, 571-577.
- Maria da Conceição Silva, J.C. (2009). Utilización del Polvo de la Cáscara de Coco Verde y Seco Asociado la Húmus en la Germinación y Formación de Plántulas

de maracujazeiro amarillo *Grupo Verde De Agricultura Alternativa*. Recuperado de <http://www.gvaa.com.br/revista/index.php/RVADS/article/viewFile/167/167>

Maciel, N. y D. Bautista. (1997). Efectos de la luz sobre la germinación de la parchita. *Agronomía Tropical* 47(4), 397-408

Matilla, A.J. y M.A. Matilla-Vázquez. (2008). Involvement of ethylene in seed physiology. *Plant Sci.* 175, 87-97. Doi: 10.1016/j.plantsci.2008.01.014

Minagricultura, (2017). Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Pasifloras son buen ejemplo de aumento de exportaciones y sustitución de importaciones. Recuperado de <https://www.minagricultura.gov.co/noticias/Paginas/Pasifloras-son-buen-ejemplo-de-aumento-de-exportaciones-y-sustituci%C3%B3n-de-importaciones.aspx>

Nau, J. (1989). Ball Culture Guide. The Encyclopedia of Seed Germination. Ball Seed. Illinois. USA. 315 p.

Nonogaki, H., G.W. Bassel y D. Bewley. 2010. Germination - still a mystery. *Plant Sci.* 179, 574-581. Doi: 10.1016/j.plantsci.2010.02.010

Rao, N.K., J. Hanson, M.E. Dulloo, K. Ghosh, D. Nowell y M. Larinde. (2007). *Manual para el manejo de semillas en bancos de germoplasma. Manuales para Bancos de Germoplasma No. 8*. Bioversity International, Roma, Italia. 31p.

Ocampo, J., G. Coppens d'Eeckenbrugge, M. Restrepo, A. Jarvis, M. Salazar y C. Caetano. (2007). Diversity of Colombian Passifloraceae: biogeography and an updated list for conservation. *Biota Colomb.* 8(1), 1-45.

- Ordoñez, A. (1987). Germinación de las tres especies de *Nothofagus* siempreverdes (Coigües), y variabilidad en la germinación de procedencias de Coigüe común (*Nothofagus dombeyi* (Mirb) Oerst). Tesis Ing. Forestal. Fac. de Cs Forestales. Univ. Austral de Chile. Valdivia. 134 p.
- Ospí, E.A. (2000). Efeito da temperatura, da maturação do fruto e do armazenamento na qualidade fisiológica de sementes de maracujá-doce (*Passiflora alata Dryander*), 98f. Tese (Doutorado em Agronomia)- Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- Ospí, E. y J. Nakagawa. (2005). Efeito da temperatura na avaliação da qualidade fisiológica de sementes do maracujá-doce (*Passiflora alata Dryander*). *Rev. Bras. Fruticultura* 26(2), 53-63.
- Ospina, J.A., C.L. Guevara, L.E. Caicedo y V. Barney. (2000). Effects of moisture content on passiflora seed viability after immersion in liquid nitrogen. *Jircas International Agriculture Series* 8, 378-381.
- Passos, I.R.S., Matos, G.V.C.; Meletti, L.M.M.; Scott, M.D.S.; Bernacci, L.C.; Vieiras, M.A.R. (2004). Utilização do ácido giberélico para a quebra de dormência de sementes de *Passiflora nitida Kunth* germinadas *in vitro*. *Rev. Bras. Fruticultura* 26, 380-381.
- Patiño, F., de la Garza, P., Villagomez, Y., I, Talavera, . y F, Camacho, . (1983). Guía para la recolección y manejo de semillas de especies forestales. México D.F. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales. Subsecretaría Forestal. Boletín Divulgativo N° 63. 181 pp.
- Probert, R.J. (2000). The role of temperature in the regulation of seed dormancy and germination. In: Fenner, M. (ed.), *Seeds: The ecology of regeneration in plant communities*. 2nd ed. Cabi Publishing, Wallingford, UK.

Reina, C. E., D. O. Tovar, M. L. Sánchez. (1996). Manejo postcosecha y evaluación de la calidad para la Badea (*Passiflora quadrangularis*) que se comercializa en la ciudad de Neiva. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ingeniería. Programa de ingeniería agrícola. Neiva.

Reina, C.E. (2014). Manejo postcosecha y evaluación de la calidad para la Badea (*Passiflora quadrangularis* L.) que se comercializa en la ciudad de Neiva. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ingeniería. Programa de ingeniería agrícola. Neiva. 5-8.

Rivera, B., Miranda, D. Avila, L.A., A.M, Nieto. (2002). Manejo Técnico del Cultivo de la ganadilla (*Passiflora ligularis* Juss). Editorial Litoas, Manizales. Colombia. Capítulo 1

Rojas, M. (1987). *Control Hormonal del Desarrollo de Plantas*. Ed. Limusa. México. 239 p.

Salisbury, I. B. y C. W. Ross. (1992). *Plant Physiology*. Wadsworth. Publishing, California, USA. 682 p.

Sawada, Y., T. Katsumata, J. Kitamura, H.Ç. Kawalde, M. Nakajima, T. Asami, K. Nakaminami, T. Kurahashi, W. Misuhashi, Y. Inoue y T. Toyomasu. (2008). Germination of photoblastic lettuce seeds is regulated via the control of endogenous physiologically active gibberelin content, rather than of giberellin responsiveness. *J. Exp. Bot.* 59(12), 3383-3393.

Schmidt, L. (2000). *Guide to Handling of Tropical and Subtropical Forest Seed, Danida Forest Seed Centre*,. Denmark: Humlebaek.

Severin, C., Salinas, A., Gattusso, S., Gattuso., M., Busilacchi, H., Giubileo, G. y A. Aguirre. (2004). Estimulación de la germinación de semillas de *Passiflora*

caerulea L. cultivadas *in vitro*. *Revista de Investigaciones de la Facultad de Ciencias Agrarias* 6, 37-38

Solís F., A.A. (2006). Algunos factores que influyen sobre la germinación de semillas de borraja (*Borago officinalis* L.). Universidad de Concepción, Chillán, Chile.

Sponsel, V.M y P, Hedden. (2004) Gibberellin biosynthesis and inactivation. In. *Plant Hormones: biosynthesis, signal Transduction, action*. Cap.2. Davies, Pj.Ed. Kluwer Acad Pub. Pp: 63-94.

Takaki M.(2001). New proposal of classification of seeds based on forms of phytochrome instead of photoblastism. *Rev Bras Fisiol Veg*.13(1), 104-108

USDA. (1975). *Soil Taxonomi*. Washington: U.S Department Of Agriculture.

Vanderplank, J. (2000). *Passion flowers*. Cambridge: American Journal of Plant Sciences, Vol.4 No.5.

Viana, A., M.G. Pereira,, M.M., Souza, J.F.M Maldonado,, A.T. Amaral Júnior, (2003). Genetic diversity among yellow passion fruit commercial genotypes and among *Passiflora* species using RAPD. *Rev. Bras. Frutic.*, 25, 489-493

Vilar, I. R. (2005). Influência da temperatua da germinacao de sementes de *Anona montana*. *Rev. Bra. Frutic* , 344-345.

White, C.N., W.M. Proebsting, P. Hedden y C.J. Rivin. (2000). Gibberellins and seed development in maize I. Evidence that gibberellin/abscisic acid balance governs

germination versus maturation pathways. *Plant Physiol.* 122, 1081-1088. Doi: 10.1104/pp.122.4.1081

White, C.N. y C.J. Rivin. (2000). Gibberellins and seed development in maize II. Gibberellin synthesis inhibition enhances abscisic acid signaling in cultured embryos. *Plant Physiol.* 122, 1089-1097.

Yamaguchi, S., M. Ogawa, A. Kuwahara, A Hanada, Y. Kanaiya y S. Yamauchi. (2004). Activation of gibberellin biosynthesis and response pathways by low temperature during imbibition of *Arabidopsis thaliana* seeds. *The Plant Cell* 16, 367–378.

Yoctkteng, R., G. Coppens d'Eeckenbrugge,, T.T. Souza-Chies. (2011). *Passiflora*. Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources. 129-171

Zucareli, V., Ferreira, G., A.C., Esteves, F Pinheiro,. (2009). Fotoperíodo, temperatura e reguladores vegetais na germinação de sementes de *Passiflora cincinnata* Mast.. *Revista Brasileira de Sementes*, 31(3), 106-114. Doi: <https://dx.doi.org/10.1590/S0101-31222009000300012>

10.Anexo Fotografico.



