Revista Brasileira de Agroecologia
Rev. Bras. de Agroecologia. 6(2) : 63-69 (2011)
ISSN: 1980-9735

Efecto del extracto de *Casearia Corymbosa* **sobre la germinación de** *Passiflora edulis* **var.** edulis

Effect of the extract of *Casearia corymbosa* on the germination of *Passiflora edulis* var. *edulis*

MONTERO, Daniel Antonio Villamil [1]; CAMARGO, Jorge Eliecer Robles [2]

Laboratório de Investigación Fitoquímica, Pontificia Universidad Javeriana. Bogota, Colombia.
1 dvillamil@javeriana.edu.co; 2 jrobles@javeriana.edu.co

RESUMO: Basado en el conocimiento etnobotánico de comunidades campesinas del Tolima, se evaluó la actividad biológica del extracto acuoso de las hojas de *Casearia corymbosa* sobre la germinación de semillas de *Passiflora edulis* var. *edulis* (Gulupa). Se siguió el método tradicional para la obtención del extracto acuoso, el cual fue diluido varias veces para preparar 12 tratamientos experimentales, los cuales fueron utilizados en un ensayo de germinación (*in vitro*) y comparados con 3 tratamientos control con Acido giberélico (GA3) y 2 tratamientos control con agua destilada. Se realizó una prueba de tetrazolium para determinar la viabilidad de las semillas y después se montó un ensayo *in vitro*, de diseño DCA, con 17 tratamientos y 1700 semillas. El porcentaje de germinación (G%) se midió cada 10 días durante 70 días y los resultados se analizaron estadísticamente con el programa R (2.8.1.). Se encontraron diferencias muy significativas entre los tratamientos con una prueba ANAVA. Se determinó con una prueba LSD que los 2 mejores tratamientos no fueron diferentes entre sí, pero fueron diferentes del resto de tratamientos. Los mejores resultados en el G% alcanzaron el 94% y 81%. Los resultados sustentan la hipótesis de investigación, la cual propone que dependiendo de la concentración, el extracto de las hojas de *C. corymbosa*, puede ser tan efectivo como el GA3 en la promoción de la germinación de semillas.
PALAVRAS-CHAVE: Etnobotánica, Fitoquímica, Propagación, Semillas, Gulupa.

ABSTRACT: Based on etnobotanical knowledge of some rural communities from central Colombia, the biological activity of the leaf extract of *Casearia corymbosa* was evaluated on the germination of *Passiflora edulis* var. *edulis* seeds. Leaf extract was obtained by traditional water extraction and it was diluted several times to prepare experimental treatments, which were compared with control treatments (GA3 and distilled water) in a germination test. Also, a tetrazolium test was conducted at the beginning of essay to determine seed viability. *In vitro* assay was made in a completely random design, with 17 treatments and 1700 seeds. The germination percentage (G%) was measured every 10 days during 70 days and the results were statistically analyzed with program R (2.8.1.). Highly significant differences between treatments were found by ANAVA, and LSD test determined not differences between 2 best treatments, but they resulted different from the rest of treatments. Best germination was obtained in (G3) and (S2) treatments, with 94% and 81% respectively. The results support the research hypothesis, which propused the presence of gibberellins in the leaf extract of *C. corymbosa*, which can be as effective as GA3 in germination.
KEY WORDS: Ethnobotany, Phytochemistry, Propagation, Seeds, Passion fruit.

Correspondências para: dvillamil@javeriana.edu.co
Aceito para publicação em 06/04/2011

Introdução

Casearia corymbosa Kunth. pertenece a la familia Flacourtiaceae y es una planta neotropical de amplia distribución. En Colombia se le encuentra con facilidad desde la región del Tequendama hasta el departamento del Huila (GARCIA-BARRIGA, 1975; RANGEL, 1995). El nombre común es "ondequiera" o "dondequiera" y tradicionalmente ha sido utilizada por campesinos del departamento del Tolima para promover el desarrollo de los granos de maíz, empleados en la elaboración de chicha; envolviéndolos cuidadosamente en las hojas de *C. corymbosa* y dejándolos reposar en un lugar fresco (ACERO, 2008 com. pers.). Este conocimiento, producto de generaciones de consumidores de chica, sugiere la hipótesis que *C. corymbosa* puede presentar promotores de la germinación como giberelinas (GAs) en sus partes vegetativas. El problema de investigación de este trabajo se relaciona con la necesidad de desarrollar el método científico para probar de manera objetiva, el efecto promotor del extracto de las hojas de *C. corymbosa*, sobre el desarrollo de semillas de *P. edulis* var. *edulis*.

Los elaboradores artesanales de chicha descubrieron las propiedades germinativas de *C. corymbosa* y trasmitieron el conocimiento, quizás cientos de años antes del descubrimiento de las giberelinas. Actualmente, la ruptura en la trasmisión del conocimiento tradicional es un problema real, producto del proceso de aculturación progresiva de las comunidades rurales, que amenaza la supervivencia de este valioso conocimiento (RAMÍREZ, 2005).

Ventajas del extracto

En Colombia, el valor comercial de 100 g de GA3 (Acido Giberélico) oscila entre los $500.00 y $1000.00 dólares ($USD). Esta condición es un factor limitante para la mayoría de los agricultores colombianos que no cuentan con los recursos para poder acceder al GA3 comercial, afectando la producción de especies con dormancia o de difícil germinación, como es el caso de las especies de *Passiflora*.

La elaboración de extractos vegetales es un proceso relativamente sencillo y barato que puede ser desarrollado prácticamente en cualquier lugar. Actualmente el uso de productos biológicos se ha fomentado por la creciente necesidad de desarrollar una agricultura sustentable libre de agroquímicos y con miras en la certificación ecológica (ALTIERI, 1999). De probarse la hipótesis de este trabajo, se podría empezar a trabajar en el desarrollo de una útil herramienta agroecológica para mejorar la productividad y contribuir con el desarrollo agrícola a nivel local.

Metodologia

En el Laboratorio de Investigación Fitoquímica de la Pontificia Universidad Javeriana (PUJ), Colombia, se limpiaron, molieron y pesaron 570g de hojas frescas de *C. corymbosa*, de los cuales se apartaron 350g en refrigerador para la elaboración del extracto acuoso de hojas frescas (EF) y el resto del material se seco al sol durante 3 días para la obtención del extracto acuosos de hojas secas (ES), siguiendo el protocolo tradicional de extracción en agua (DEY & HARBORNE, 1991). Una vez obtenidos los extractos, se prepararon 6 soluciones de diferentes concentraciones y a partir de ellas se elaboraron los tratamientos experimentales (Tabla 1).

Se realizó un ensayo de germinación *in vitro*, con un diseño DCA, en el cual se usaron 1700 semillas distribuidas en 17 tratamientos (Tabla 1) de 5 repeticiones, usando 20 semillas por repetición. Cada repetición consistió en una caja de petri con papel para germinación con 10ml de agua destilada, en donde se colocaron las 20 semillas después de ser embebidas en los respectivos tratamientos. Las cajas de petri se guardaron a temperatura ambiente (16°C±4°C) en bandejas

Tabla 1. Tratamientos utilizados.

Tratamiento		Tiempo imbibición	Concentración
Extracto Hojas Frescas	F1	12h	4mg/ml
	F2	12h	2mg/ml
	F3	12h	0.4mg/ml
	F4	24h	4mg/ml
	F5	24h	2mg/ml
	F6	24h	0.4mg/ml
Extracto Hojas Secas	S1	12h	5mg/ml
	S2	12h	2.5mg/ml
	S3	12h	0.5mg/ml
	S4	24h	5mg/ml
	S5	24h	2.5mg/ml
	S6	24h	0.5mg/ml
GA3	G1	5h	1mg/ml
	G2	12h	1mg/ml
	G3	24h	1mg/ml
H2O	H1	12h	0mg/ml
	H2	24h	0mg/ml

plásticas negras y se cubrieron con papel aluminio, siguiendo las observaciones de Villamil et al., (2008). En cada tratamiento se aplicaron 10ml de agua destilada cada 20 días después de la siembra (dds) para prevenir la deshidratación. Se revisaron las semillas 3 veces por semana y se registro el porcentaje de germinación (G%) cada 10 días a partir del día en el cual se registró la primera semilla germinada. Los resultados fueron analizados estadísticamente con el programa R 2.8.1, aplicando las pruebas de Levene, ANAVA y LSD. Finalmente las plántulas obtenidas fueron llevadas a invernadero.

Prueba de Viabilidad

Se realizó un test de tetrazolium antes del montaje de los ensayos para comprobar la viabilidad de las semillas. Se usaron 100 semillas en 3 repeticiones (previamente embebidas en agua destilada), las cuales se cortaron a la mitad y se sumergieron en solución de tetrazolio al 0.1% según el protocolo de la ISTA (2006) y siguiendo a Ferreira et al., (2005). Los embriones total o parcialmente teñidos se tomaron como viables mientras que los embriones blancos sin teñir se tomaron como no viables.

Resultados

Viabilidad de las semillas

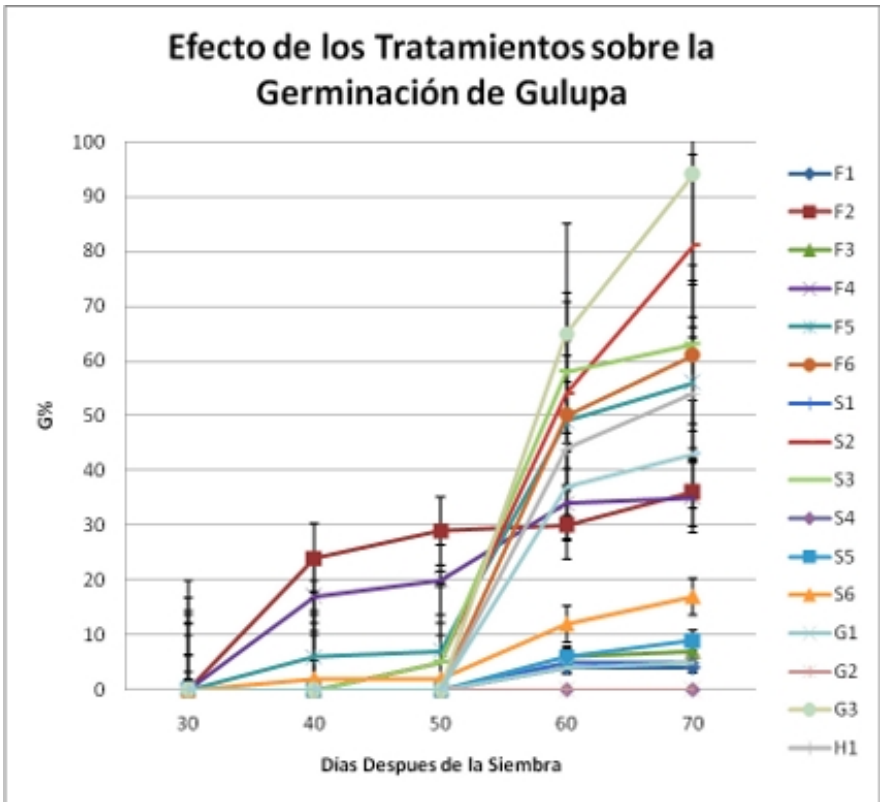
La viabilidad de las semillas fue del 99%. La mayoría de los embriones presentaron una tinción superior al 60% de su área total y solo un embrión se identificó como no viable.

Ensayo de germinación

Se obtuvo una germinación total del 37.6%, correspondiente a 640 semillas repartidas en 15 tratamientos. En 2 tratamientos (G2 y S4) no se registró germinación. En los tratamientos F2 y F4 se obtuvieron las primeras semillas germinadas, con promedios equivalentes al 24% y 17% a los 40 dds. .Los mejores tratamientos con G% superior al 80% fueron G3 y S2 (Figura 1) con medias de 18.8 y 18.2 semillas germinadas en cada repetición a los 70 dds; seguidos por los tratamientos S3 (63%) y F6 (61%) con medias de 12.6 y 12.2 a los 70dds. Los tratamientos F5, H1, H2, F2 y F4 presentaron germinación superior al 20% pero inferior al 60% a los 70dds; y los tratamientos S6, S5, F3, G1, F1 y S1 presentaron muy poca germinación (< 20%) con un promedio inferior a 5 semillas germinadas en cada repetición (Figura 1).

El análisis estadístico demostró que a los 70

Figura 1. Promedio y desviación estándar de la germinación en cada tratamiento durante el trascurso del ensayo.



dds los tratamientos son significativamente diferentes, con un resultado del ANAVA (P=2.2e-16<0.05α). El resultado de la prueba de Leven validó el resultado del ANAVA (P=0.1033>0.05α). La prueba de LSD (Tabla 2) indicó que los mejores tratamientos (G3 y S2) no son significativamente diferentes entre sí, pero son significativamente diferentes del resto de los tratamientos a los 70dds.

Según el resultado obtenido con la prueba LSD las medias de los tratamientos con la misma letra no son significativamente diferentes. Por esta razón, se puede inferir que el extracto acuoso de las hojas de *C. corymbosa* puede tener un efecto muy similar al del GA3 sobre la germinación de *Passiflora edulis* var *edulis* dependiendo de la concentración y el tiempo de imbibición de las semillas.

La diferencia entre el grupo de tratamientos (G3 y S2) con respecto al segundo grupo (S3 y F6) fue del 25% y la diferencia con el grupo control (H1 y H2) fue del 39%. La diferencian con el resto de tratamientos fue superior al 50%.

Discusión

La evolución de características florales asociadas a polinizadores notablemente específicas tuvo un papel importante en la abundante especiación de *Passiflora* y muchas especies no desarrollaron mecanismos genéticos de aislamiento reproductivo, pudiéndose cruzar entre sí y producir híbridos con semillas viables, incluso cuando se cruzan cultivariedades con especies silvestres (RAMÍREZ, 2006). Se ha comprobado que las especies de *Passiflora* tienden a la polinización cruzada, como consecuencia de la organización floral y un mecanismo característico, que promueve este tipo de polinización gracias al movimiento alterno de las anteras y los estigmas (KNIGHT & WINTERS, 1962; JANZEN, 1968 citados por RAMIREZ, 2006).

La teoría más aceptada dice que *P. edulis* fue introducida a Colombia, procedente del sur de Brasil en los años 60s. Pero, como producto de la polinización cruzada, la hibridación y la selección artificial, ahora es posible encontrar cultivariedades y formas locales muy adaptadas a condiciones especificas de los valles interandinos colombianos. Ocampo et al., (2007) en su actualizada lista para la conservación de pasifloras en Colombia, reportan varias formas locales de *P. edulis* creciendo incluso de manera silvestre. Los mismos autores (2005) observaron con marcadores moleculares que la similaridad entre las formas

Tabla 2. LSD: resultado de la prueba estadística en R 2.8.1

LSD t Test for values		
Alpha		0.050000
Error Degrees of Freedom		68.000000
Error Mean Square		10.705882
Critical Value of t		1.995469
Least Significant Difference		4.129393
Grupos	Tratamientos	µ
A	**g3**	**18.8**
A	**s2**	**18.2**
B	s3	12.6
B	f6	12.2
Bc	f5	11.2
Bcd	h1	10.8
Bcd	h2	8.6
Cd	f2	7.2
De	f4	6.8
Ef	s6	3
F	s5	1.8
F	f3	1.4

morada (*P. edulis* var. *edulis*) y amarilla (*P. edulis* var. *flavicarpa*) del maracuyá es muy baja; y que la forma morada puede llegar a ser más similar a *P. maliformis*, otra especie colombiana menos cultivada.

Si se tiene en cuenta esta notable variabilidad, encontrar diferencias fisiológicas cuando se estudian poblaciones diferentes de la misma especie de pasiflora no es sorprendente. De hecho, se ha señalado que cuando se propagan pasifloras por semilla esta diversidad genética puede resultar en una variabilidad indeseable para una plantación comercial (ISUTSA, 2004). Acorde con lo anterior, Romero (2000) y Salazar (2000) encontraron al trabajar con poblaciones diferentes, que el mayor efecto sobre la germinación de *Passiflora* lo tiene la procedencia de las semillas, seguido por el grado de madurez de los fruto.

En este estudio, se trabajó con una muestra de semillas de madurez homogénea (PINZÓN, 2007) proveniente de la misma planta. De esta manera se intentó reducir el efecto de factores como la diversidad intraespecífica sobre la variable respuesta (G%), obteniendo un resultado en la germinación de *Passiflora* superior al 80% con el mejor de los tratamientos del extracto de *C. corymbosa*, muy similar al obtenido con la mejor de las aplicaciones de GA3 de laboratorio, pero a un costo de tan solo el 0.003% del valor comercial del GA3.

Los resultados obtenidos son diferentes a los reportados en *Passiflora* por Romero (2000), Rozzeto (2000) y Zucareli (2003); y conformes con Ferreira (2005) y Ortega (2006), quienes obtuvieron altos valores de germinación en otras pasifloras. Se prueba entonces que el extracto acuoso de las hojas secas de C. corymbosa [2.5mg/ml] y el GA3 [1mg/ml] tienen un efecto promotor significativamente alto sobre la germinación de Passiflora edulis var. edulis.

Los resultados de %G obtenidos son diferentes a los reportados por Romero (2000), Rozzetto (2000) y Zucareli (2003) quienes sólo obtuvieron bajos G%; y conformes con Ferreira (2005) y

Ortega (2006), quienes también obtuvieron altos valores de G% en otras pasifloras. Se sustenta entonces que el extracto acuoso de las hojas secas de *C. corymbosa* [2.5mg/ml] y el GA3 [1mg/ml] pueden tener un efecto promotor significativamente alto sobre la germinación de *Passiflora edulis* var. *edulis* cuando son aplicados por imbibición de las semillas durante 12h y 24h respectivamente.

Conclusiones

El extracto acuoso de las hojas de *C. corymbosa* demuestra tener una aplicación importante en la agricultura, al presentar el mismo efecto que el GA3. Su potencial para influir sobre la germinación de otras plantas, plasticidad, abundancia y adaptabilidad convierten a *C. corymbosa* en una planta ideal para integrar en un agroecosistema. Bien sea en una cerca viva, como nodriza de otra planta o como fuente de hojas para la elaboración del extracto, el "ondequiera" tiene un futuro promisorio, pues la elaboración de 2 litros de extracto, solo implica agua limpia y unos 120g de hojas secas. Además, el extracto puede ser reutilizado casi indefinidamente si se aplica por imbibición de las semillas. Su fácil elaboración lo convierte en una útil herramienta a disposición de prácticamente cualquier agricultor en el campo colombiano.

Agradecimientos

Al profesor Luís Enrique Acero y a Don Alvaro Agudelo por compartir el valioso conocimiento del uso tradicional de las plantas; al personal del Laboratorio de Investigación Fitoquímica de la Pontificia Universidad Javeriana y al de la Unidad de Biotecnología Vegetal de la PUJ por su enorme colaboración y confianza.

Referencias

ALTIERI, M. Agricultura Organica. 1999. 117p. In: ALTIERI, M. (ed). **Bases científicas para una agricultura sustentable.** Nordan Comunidad. 1999. Cap.8. p.165-183.

DEY, P. M; HARBONE, M. Terpenoids. 1991. In: DEY, P. M. **Methods in plant biochemistry**. London : Academic Press. V.7. p225.

FERREIRA, G.; OLIVEIRA, A.; RODRIGUES, D.; BRAVO, G.; DETONI, A.; TESSER S.; ANTUNES, M. Efeito de arilo na germinação de sementes de *Passiflora alata* curtis em diferentes substratos e submetidas a tratamentos com giberelina. **Rev. Bras. Frutic**, Jaboticabal, v.27, n.2, p.277-280, 2005

GARCIA-BARRIGA, H. **Flora Medicinal de Colombia: Botánica medica**. 2da *ed*. Imprenta Nacional. Bogotá, Colombia. Tomo II. 232p, 1975.

ISTA. **International Seed Testing Association**. International rules for seed testing +100p. 2006.

ISUTSA, D. Rapid micropropagation of passiflora fruit (*Passiflora edulis* Sims.) varieties. **Scientia Horticulturae**. v.99, n. 3-4, p.395-400, 2004.

OCAMPO, J.; COPPENS, D.; OLANO, C. T.; SCHNELL, R. J. AFLP. Analysis for the Study of Genetic Relationships Among Cultivated Passiflora Species of the Subgenera Passiflora and Tacsonia. Proc. Interamer. **Soc. Trop. Hort**. v.48, p72-76, 2005.

OCAMPO, J.; PÉREZ, G.; COPPENS D.; RESTREPO, M.; JARVIS, A.; SALAZAR, M.; CAETANO, C. Diversity of Colombian Passifloraceae: biogeography and an updated list for conservation. **Biota Colombiana**, v.8, n.1, p.1–45, 2007.

ORTEGA, A. Estudio en la fisiología de semillas de *Passiflora rubra* en dos épocas de colecta en el jardín botánico del Quindio. Bogotá, Colombia, 2006. 150p. Trabajo de grado (Biólogia) - Pontificia Universidad Javeriana.

PINZÓN, M.; FISCHER, G.; CORREDOR, G. Determinación de los estados de madurez del fruto de la gulupa (*Passiflora edulis* Sims). **Agronomía Colombiana**, v.25, n.1, p.83-95, 2007.

RAMÍREZ, Z. Conservación de la diversidad biológica y cultural en el piedemonte amazónico colombiano: La herencia del Dr. Schultes. **Ethnobotany Research & Applications**. v.3, p.167-177, 2005.

RAMÍREZ W. Hibridación interespecífica en *Passiflora* (PASSIFLORACEAE), mediante polinización manual, y características florales para la polinización. **Lankesteriana**, v.6, n.3, p123-131, 2006.

ROMERO, P. Evaluación del efecto de algunos factores físicos y quimicos sobre la germinación

de las semillas de tres especies de Passiflora, *P. edulis, P. mollisima, P. Lingularis*. Bogotá, Colombia, 2000. 204p. Trabajo de grado (Biología) - Pontificia Universidad Javeriana.

TOOGOOD, A. **Plant propagation**. American Horticultutal Society. DK publishing inc.New York. 136p. 1999.

VILLAMIL, D., ROBLES, J & CHAPARRO, C. Efecto del Extracto Giberélico de *Casearia corymbosa* (FLACOURTIACEAE) sobre la germinación de semillas y la elongación de yemas laterales de papa cultivadas *In Vitro*. In: **Memorias V Congreso colombiano de Botánica**. San Juan de Pasto, Colombia. 105p. 2009.

ZUCARELI, C.; CASTRO, M.; OLIVEIRA, H.; BRANCALIÃO, R.; RODRIGUES D.; ONO, O.; BOARO C. Fitoreguladores e germinação de sementes de maracujá doce em condições de laboratório. **Scientia Agraria**, v.4, n.1-2, p. 9-14, 2003.