

**EVALUACIÓN DE DIFORMÍL ÚREA PARA EL MANEJO DE ESTRÉS
ABIÓTICO EN EL CULTIVO DE MARACUYÁ.**

MARIA PAULA RIVAS CLAVIJO

MARIANA SAENZ MORA



**UNIVERSIDAD DE CALDAS
PROGRAMA DE INGENIERIA AGRONOMICA
MANIZALES
2020**

**EVALUACIÓN DE DIFORMÍL ÚREA PARA EL MANEJO DE ESTRÉS
ABIÓTICO EN EL CULTIVO DE MARACUYÁ.**

MARIA PAULA RIVAS CLAVIJO

MARIANA SAENZ MORA

Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de:

Ingeniero agrónomo

Director:

FREDDY ELISEO HERNÁNDEZ JORGE. I.A., Msc.

UNIVERSIDAD DE CALDAS
PROGRAMA DE INGENIERIA AGRONOMICA
MANIZALES

2020

Nota de aceptación

Firma de director del trabajo de grado

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por guiarme siempre por el mejor camino, permitiéndome ser una mejor persona, para así poder ser una gran profesional.

A mis padres, Elkin Darío Rivas y Maria Isabel Clavijo, por siempre darme ánimos para seguir adelante, y cuidarme y amarme, para llegar hasta donde estoy.

A mi hermana, Mariana Rivas Clavijo, que me acompaña siempre, y por quien quiero salir adelante, para ser un ejemplo a seguir.

A mis abuelos, tíos y primos, por siempre estar tan pendientes de mí, y ayudarme siempre que lo necesito.

Maria Paula Rivas Clavijo

A Dios por acompañarme en cada momento de mi vida, regalándome tantas bendiciones y guiando me hasta el éxito de mi carrera, permitiendo mi formación como una gran profesional y un buen ser humano.

A mis hermanos Jhon y Deuner por acompañarme en este camino, ser mi motivación y mi apoyo para salir adelante.

A mis padres Ana Rosa Mora Romero y Deuner Sáenz por darme la vida, tanto amor y sacrificios para llegar hasta donde estoy.

A Julián por ser un eje principal en este proceso, por su colaboración, su compañía, amor y comprensión en cada uno de los momentos de este camino.

Mariana Sáenz Mora

Al profesor Freddy Eliseo, el director de esta tesis, por sus conocimientos, apoyo constante y credibilidad en nuestras capacidades; por estar en cada momento de este proyecto con sus aportes, para hacer más amena la realización del mismo.

CONTENIDO

RESUMEN	8
Marco Teórico	10
Eco-fisiología del estrés en plantas causado por factores ambientales abióticos y bióticos.	13
El concepto de estrés.....	13
Factores ambientales que originan estrés en las plantas.	15
Estrés abiótico.....	15
Resistencia Sistémica Adquirida (RSA) y Resistencia Sistémica Inducida (RSI).	18
Transducción de señales en la resistencia sistémica adquirida.	19
Prolina.....	19
OBJETIVOS.....	20
Objetivo general.....	20
Objetivos específicos	20
MATERIALES Y MÉTODOS.....	20
Localización:.....	20
Montaje del ensayo	20
Aplicaciones foliares de diformil úrea.....	22
Variables a evaluar.....	22
Procesamiento de muestras	23
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	25
CONCLUSIONES.....	31
RECOMENDACIONES	31
BIBLIOGRAFÍA	32
ANEXOS	36

Índice de figuras:

Figura 1: Sensibilidad relativa de diferentes procesos en la planta frente al déficit hídrico (modificado de Hsaio et al., 1976).	16
Figura 2: Pesaje de la muestra- Figura 3: Macerado– Figura 4: Centrifugación(6000 rpm durante 10 minutos)– Figura 5: Obtención del precipitado (Figuras 1 a 4).	23
Figura 6: Cobertura con papel aluminio de los tubos y Adición de reactivos	23
Figura 7: Baño maría.....	24
Figura 8: Choque térmico de las muestras	24
Figura 9: Adición de tolueno para proceder a la lectura.	24
Figura 10: Lectura de muestras en el espectrofotómetro en celdas de cuarzo.	25

Índice de Tablas:

Tabla 1: Tratamientos para el experimento en maracuyá.....	21
Tabla 2: Análisis de varianza para las variables Número de Hojas (NH) y Diámetro del Tallo (DT) de maracuyá a través del tiempo.	26
Tabla 3: Pruebas comparativas de medias Duncan para el efecto de los diferentes niveles de humedad sobre las variables Numero de Hojas (NH) y Diámetro del Tallo (DT) en plantas de maracuyá a través del tiempo.	26
Tabla 4: Análisis de varianza para las variables peso fresco raíz y peso seco raíz (PFR y PSR) y peso fresco aéreo y peso seco aéreo (PFA y PSA) de maracuyá a través del tiempo.	28

EVALUACIÓN DE DIFORMIL ÚREA PARA EL MANEJO DE ESTRÉS ABIÓTICO EN EL CULTIVO DE MARACUYÁ.

RESUMEN

Se realizó la evaluación del antioxidante Diformil Úrea para el manejo de estrés abiótico (condiciones de sequía) en el cultivo de Maracuyá (*Passiflora edulis*), en fase de vivero. Las variables que se determinaron fueron número de hojas verdaderas (desplegadas), diámetro del tallo, peso fresco y peso seco de raíces y parte aérea y determinación de prolina.

El experimento se llevó a cabo en la granja Montelindo de la universidad de caldas, ubicada a 38 kilómetros desde Manizales, en la vereda Santágueda, municipio de Palestina, a una altitud de 1.010 metros, una temperatura media de 22.8 grados centígrados, una precipitación promedio anual de 2.200 mm, y una humedad relativa de 76%. El diseño experimental fue en parcelas divididas con un arreglo de bloques completos al azar (BCA); teniendo como parcela principal los niveles de humedad para el sustrato suelo en cada bolsa del vivero (condición óptima de capacidad de campo, Punto de Marchitez Permanente – PMP inicial y una condición intermedia entre las dos anteriores) y al interior de cada una ellas 5 tratamientos con 4 repeticiones. El modelo estadístico para el análisis de datos está dado por la expresión: $Y_{ij} = \mu + PM + T_i + B_j + E_{ij}$, la unidad experimental (UE) fue de 3 plantas. El método de análisis de los datos fue ANOVA, para las diferencias entre los tratamientos se aplicó la prueba comparativa Duncan con un nivel de confianza del 95% y una tasa de error del 5%. En el desarrollo del trabajo de investigación se buscó establecer la mejor dosis de respuesta en el antioxidante a evaluar.

Cada repetición de las cuatro planteadas por tratamiento constó de 10 plantas. La distribución de cada repetición se asignó aleatoriamente, la unidad experimental (3 plantas) por tratamiento, fue tomada de la zona central de las 10 plantas para reducir al máximo la interacción de las plantas con otros tratamientos. Se siguieron todos los protocolos y cuidados como fertilizaciones y riegos programados con el fin de conservar el buen estado de las plantas, hasta el momento de establecer las variaciones de humedad en los sustratos de cada

una de las bolsas de las plantas de maracuyá en el vivero (tres pares de hojas verdaderas completamente extendidas y un desarrollo de raíces en el sustrato de al menos el 60%).

Se evidencia que el nivel de humedad denominado capacidad de campo con la variable número de hojas (NH) presentó el mejor comportamiento con valores comprendidos entre 1,53 - 7,68 y diámetro del tallo (DT) con valores máximos de 6,57 y mínimos de 4,35.

El nivel de humedad intermedio también presentó un buen comportamiento con valores de 5,17 hasta 8,92 para la variable número de hojas (NH) y entre 4,08 y 6,53 para diámetro del tallo (DT). En cuanto al peso fresco y seco de la raíz y la parte aérea indicó que no existe diferencias significativas en las fuentes niveles de humedad, tratamientos, y la interacción niveles de humedad por tratamiento. Para la concentración de prolina, se presentaron incrementos positivos para todas las interacciones niveles de humedad por tratamiento en especial en el nivel de humedad punto de marchitez permanente inicial (PMPini) con el tratamiento diformil ureal 1,5 cc/ l (DU1,5cc) con un valor de 8,2 μ M.

Palabras clave: maracuyá, prolina, diformil urea, estrés hídrico.

ABSTRACT

The evaluation of the antioxidant diformyl urea handling abiotic stress (drought conditions) in growing Maracuyá (*Passiflora edulis*) was held in nursery phase. The variables measured were the number of true leaves (deployed), stem diameter, fresh weight and dry weight of roots and aerial parts and determination of proline.

The experiment was carried out in the Montelindo farm Caldas University, located 38 kilometers from Manizales, in the village Santágueda, municipality of Palestine, at an altitude of 1,010 meters, an average temperature of 22.8 degrees Celsius, an average rainfall annual of 2200 mm, and a relative humidity of 76%. The experimental design was divided into plots with an arrangement randomized complete blocks (RCB); with the main plot humidity levels for the substrate soil in each bag nursery (optimum condition of field capacity, Wilting Point Permanent - initial PMP and an intermediate condition between the above two) and within each of them five treatments with 4 replications. The statistical model for data analysis is given by the expression, the experimental unit (EU) was 3 floors. The method of data analysis was ANOVA for differences among the treatments comparative test was applied

Duncan $Y_{ij} = \mu + PM + T_i + B_j + E_{ij}$ with a confidence level of 95% and an error rate of 5%. In developing the research sought to establish the best dose response in the antioxidant to be evaluated.

Each repetition of the four raised by treatment consisted of 10 floors. The distribution of each repetition were randomized, the experimental unit (3 plants) per treatment, was taken from the middle of 10 plants to minimize the interaction of plants with other treatments. All protocols and care as fertilization and irrigation scheduled in order to preserve the good condition of the plants, so far to establish moisture variations in the substrates of each of the bags of plants of fruit in the nursery were followed (three pairs of true leaves fully extended and root development in the substrate of at least 60%).

It is evident that the moisture level called field capacity with the variable number of sheets (NH) showed the best performance with values ranging from 1.53 to 7.68 and stem diameter (DT) with maximum values of 6.57 and 4.35 minimum.

Intermediate moisture level also showed good behavior with values of 5.17 to 8.92 for the variable number of leaves (NL) and between 4.08 and 6.53 to stem diameter (DT). As for the fresh and dry root weight and aerial part indicated that no significant differences in moisture levels, treatment sources, and the interaction treatment moisture levels. For proline concentration, positive increases for all interactions moisture levels were presented by treatment especially in the humidity initial point of wilting (PMPini) diformyl treatment with ureal 1.5 cc / l (DU1,5cc) with a value of 8.2 μ M.

Keywords: passionfruit, proline, diformyl urea, water stress.

MARCO TEÓRICO

Maracuyá (*Passiflora edulis forma flavicarpa*).

El maracuyá (*Passiflora edulis forma flavicarpa*) es una planta trepadora del género pasiflora, nativa de las regiones subtropicales y tropicales de América; se cultiva comercialmente en la mayoría de áreas tropicales y subtropicales del globo, entre otros países: Paraguay, República Dominicana (chinola), Argentina, Bolivia, Brasil, Ecuador, Perú,

Colombia, Venezuela, Costa Rica, Estados Unidos, Panamá, Nicaragua, Partes del Caribe (Salinas, 2014).

La *Passiflora edulis forma flavicarpa* se considera originaria de la región amazónica, aunque crece de forma silvestre en un área que abarca principalmente desde Colombia hasta el norte de la República Argentina y Uruguay; en Paraguay, donde es considerada como flor nacional, las distintas variedades están adaptadas a regímenes más o menos tropicales. A lo largo del siglo XIX las variedades de utilidad gastronómica se introdujeron con éxito en Hawái, Australia y otras islas del Pacífico sur. Las condiciones climáticas favorables hicieron que la planta se adaptara rápidamente; si bien en Hawái la explotación comercial no tuvo verdadero impulso hasta mediados del siglo XX, la planta era frecuente en estado silvestre desde hacía décadas (Salinas, 2014).

Según CIAT (2012) El maracuyá se adapta a condiciones climáticas cálidas, es decir, a altitudes entre 300 y 1400 m.s.n.m., temperaturas o entre 21 y 28 °C y a una precipitación bien distribuida de 1000 a 2000 mm al año. Lo favorecen más de 8 meses lluviosos al año. Los vientos fuertes y secos pueden ser un factor desfavorable para la producción del cultivo, si estos vientos son frecuentes, hay que establecer cortinas rompe vientos y reforzar la estructura del tutorado de las plantas. Los surcos deben orientarse en el sentido del viento para minimizar los efectos dañinos de éste.

Según ENA (2016) el cultivo del maracuyá en Colombia pasó de 33620 hectáreas en el año 2014 a 46879 hectáreas para el año 2015 incrementando el área en un 39,4%, además de registrar un ligero aumento en la producción representado en toneladas por hectárea pasando de 15,6 en el año 2014 a 15,7 en el 2015 (variación del 0,6%).

Salinas (2014) encontró que este se consume en todas las ciudades del país, y proviene en su mayoría del Valle del Cauca y Santander, y en menor escala, de Antioquia, Caldas, Cundinamarca, Córdoba, Meta, Huila y Magdalena. El producto del Valle del Cauca suele ser considerado por los consumidores, como de mejor calidad por su sabor, color uniforme, rendimiento y ausencia de manchas, razones por la cuales tiene mayores precios, en

comparación con otras zonas productoras de Colombia. El fruto alcanza su madurez después de 60-70 días de haber sido polinizado, cuando alcanza su madurez se desprende de la planta cosechándose del suelo, con la dulzura que se colecta así llega a su madurez total, cambiando únicamente el color de la cáscara.

Semilla. Es de color casi negro a marrón oscuro, la semilla es de forma acorazonada, su superficie es irregular con huecos a manera de grivas, cada semilla es un ovario fecundado por un grano de polen, por lo que el número de semillas, el peso del fruto y la producción de jugo están correlacionados con el número de granos de polen depositados sobre los estigmas, dicho número no debe ser menor de 190. Las semillas están constituidas por aceites en un 20-25% y un 10% de proteína. En condiciones ambientales la semilla mantiene su poder germinativo por 3 meses y en refrigeración hasta 12 meses.

El Maracuyá es una fuente de proteínas, minerales, carbohidratos y grasas. Una fruta de Maracuyá tiene un valor energético de 78 calorías, 2.4 gramos de hidratos de carbono, 5 mg de Calcio, 17 mg de Fósforo este interviene en la formación de huesos y dientes interviniendo en el metabolismo energético, 0.3mg de hierro, 684mg de vitamina A la cual es esencial para la visión, la piel, el cabello, las mucosas, los huesos y para el buen funcionamiento del sistema inmunológico, 0.1 mg de vitamina B2 (Rivoflavina), 2.24 mg de Niacina y 20 mg de vitamina C las cuales al armonizarse dan como resultado la producción del colágeno, huesos y dientes, glóbulos rojos, y beneficia a la absorción del hierro de los alimentos y las resistencias a las infecciones (Camargo, 2010).

Según Leiva (2011) en cuanto al manejo de problemas fitosanitarios se logra mediante la adecuación de las labores propias del cultivo al propósito de la sanidad y óptimo desarrollo de las plantas. Dichas labores incluyen la preparación del terreno, la siembra, el riego, la fertilización y las podas. Cuando estas actividades se hacen adecuadamente, permiten manejar la mayoría de plagas, enfermedades y malezas, porque fomentan el desarrollo de plantas fuertes, bien nutridas y con buenas defensas. La mayoría de los problemas fitosanitarios se pueden manejar llevando a cabo las anteriores prácticas.

Eco-fisiología del estrés en plantas causado por factores ambientales abióticos y bióticos.

El estrés ambiental es una fuerte restricción para el aumento de la productividad y de la extensión de los cultivos. Se estima que únicamente un 10% de la superficie de tierra arable se encuentra libre de estrés. Cerca del 20% de la tierra presenta algún tipo de deficiencia o toxicidad mineral, 26% es afectada por estrés de sequía y 15% por congelación (Blum, 1988).

Los intentos para disminuir un estrés, o para mejorar la resistencia o la adaptación de las plantas a dicho estrés, tendrán mayor alcance si se entiende el trasfondo fisiológico y bioquímico sobre el cual transcurren las respuestas de las plantas. Con ello es posible desarrollar estrategias de manejo razonables para disminuir las pérdidas debidas a las distintas clases de estrés. En los últimos años se ha presentado un crecimiento enorme en la cantidad de publicaciones científicas y tecnológicas referentes al área de estrés ambiental en las plantas. Responsable en parte de ello es el enorme abanico de técnicas, enfoques experimentales y nuevos conocimientos con que se cuenta de 1980 a la fecha. Las nuevas tecnologías de la biología como la clonación, el mapeo de genes, el uso de mutantes, genética reversa y sobre expresión génica, así como la aplicación cada vez mayor de la informática y de equipos sofisticados altamente automatizados como los de generación de imágenes y resonancia magnética entre otros han permitido aumentar grandemente la comprensión de los fenómenos relacionados con el estrés en las plantas (Benavides-Mendoza, 2002).

El concepto de estrés.

Benavides-Mendoza (2002) ha definido el estrés como una desviación significativa de las condiciones óptimas para la vida. Como respuesta a dicha desviación se inducen cambios en todos los niveles funcionales del organismo, pudiendo ser dichos cambios reversibles o permanentes. Aún si la condición de estrés es temporal, es normal que la vitalidad de la planta se vea disminuida entretanto se realizan los ajustes requeridos para la nueva situación. Si el estrés es demasiado intenso o si el período de acción es demasiado largo entonces los daños latentes se transforman en daño irreversible que puede afectar a la planta entera o partes de la misma. El significado literal de la palabra “estrés” es restricción (lt. *stringere*) o fuerza que

empuja deformando un cuerpo. Para los físicos el estrés es la tensión interna de un material o estructura frente a una fuerza externa que potencialmente puede causar extensión o compresión.

En el área biológica el término estrés ha adquirido una connotación más amplia, refiriéndose tanto a los estímulos ambientales que se apartan de los rangos óptimos como al estado fisiológico que se observa en el organismo como consecuencia de los estímulos ambientales negativos (Larcher, 1995).

Benavides-Mendoza (2002) presenta una definición más elaborada de estrés expresando que es conjunto de respuestas bioquímicas o fisiológicas que definen un estado particular del organismo diferente al observado bajo un rango de condiciones óptimas. Asimismo, describe el término resistencia al estrés para definir la capacidad de un organismo para evitar los estímulos ambientales negativos o para permanecer bajo un estado particular de estrés sin que su fenotipo se vea modificado de manera significativa. En la definición anterior se considera que existe un estado fenotípico ideal, observado bajo condición óptima, al cual se le llama “norma”.

De la definición anterior surge de manera lógica el criterio para reconocer el estrés. La norma para una característica específica, como el contenido de hierro en los tejidos foliares, debe marcar un rango de valores fuera de los cuales el funcionamiento de ciertos procesos vitales se verá disminuido. Con base en la experiencia somos capaces de distinguir rápidamente diversos estados de estrés considerando manifestaciones fenotípicas visuales como deformaciones, amarillamientos, manchados, necrosis, etc. Otras manifestaciones fenotípicas son menos obvias y requieren de equipo especializado para detectarlas, ejemplo de ello es la disminución en la actividad de asimilación de CO₂, la inducción de la transcripción de ciertos genes, cambios en la composición química de ciertas estructuras, etc (Benavides-Mendoza, 2002).

Factores ambientales que originan estrés en las plantas.

Son múltiples los factores ambientales que inducen estados de estrés en las plantas. El estrés ambiental es el principal factor que evita ampliar los rangos de cultivo de ciertas especies, así como aumentar los rendimientos y calidad de las cosechas. El control del estrés ambiental es, asimismo, en conjunto con las plagas y enfermedades, el principal objetivo de los modernos sistemas de producción tecnificada (Benavides-Mendoza, 2002).

Estrés abiótico

Déficit hídrico

Cornejo Oviedo, et al. (2004) indican que es probable que el estrés asociado con el déficit hídrico sea uno de los más comunes entre las plantas cultivadas y de comunidades naturales. Posiblemente solo se vea rebasado, considerando solo a las plantas cultivadas, por el estrés inducido por salinidad y por el estrés que se presenta por la combinación de alta irradiación y baja concentración de CO₂. La pérdida de agua por un dosel vegetal es un proceso inevitable considerando que las plantas utilizan la transpiración como mecanismo de enfriamiento. Por otra parte, la asimilación de CO₂ a través de los estomas da lugar a la pérdida de vapor de agua, por lo tanto, para mantener un adecuado ritmo de crecimiento las plantas normalmente pierden gran cantidad de agua con respecto al peso ganado de CO₂. Como ejemplo, una planta C₃ pierde un kilogramo de agua por cada 1-3 g de CO₂ fijados, una planta C₄ gana de 2 a 5 g de CO₂ por kg de agua transpirada, mientras que una planta CAM es capaz de fijar de 10 a 40 g de CO₂ por kg de agua transpirada.

El déficit hídrico y la sequía limitan la productividad vegetal de nuestro planeta más que cualquier otro factor ambiental y generalmente la tasa de crecimiento de una comunidad vegetal o un cultivo son proporcionales a la disponibilidad de agua (Boyer, 1982).

A causa de su papel esencial en el metabolismo vegetal, el déficit de agua afecta rápidamente procesos que van desde la fotosíntesis hasta la respiración. El agua es un agente químico que imparte estructura y orden a las moléculas biológicas, así como a las interacciones entre ellas (importancia biofísica), además de utilizarse como fuente de los pares electrón-protón indispensable para el mantenimiento del proceso fotosintético (importancia bioquímica). El bajo aporte de agua causa deshidratación que se asocia con degradación de las membranas celulares y de los organelos, desnaturalización de las proteínas, una disminución crítica en la

(3). Adaptaciones, esto es, estrategias a largo plazo que incluyen patrones fijos (genéticamente dependientes) de reparto de biomasa, modificaciones anatómicas que se heredan entre generaciones, mecanismos fisiológicos complejos como el metabolismo CAM, crecimiento reducido para optimizar el uso del agua y la captura de energía, etc.

Las plantas presentan dos principales mecanismos de respuesta frente al déficit hídrico: la evitación o escape y la tolerancia (Kramer, 1988). La evitación del estrés incluye el uso de ciclos de crecimiento muy rápidos o madurez temprana, permitiendo el aprovechar los rápidos períodos de disponibilidad de agua y evitando los períodos de sequía, ya que normalmente estas plantas carecen de verdaderos mecanismos para tolerar la deficiencia de agua. Por su parte la tolerancia al déficit hídrico incluye todas las estrategias que permiten el crecimiento y/o la supervivencia durante un evento de sequía más o menos largo. Entre las plantas tolerantes se encuentran aquellas que evitan la deshidratación utilizando mecanismos morfo fisiológicos complejos como: hojas pequeñas y cerosas, estructuras que facilitan la colecta del rocío, distribución radical muy superficial para la captura del agua del rocío o bien raíces muy profundas (plantas freatofíticas), modificaciones en la arquitectura del dosel, cambios anatómicos en la epidermis como el tamaño y número de estomas, ubicación de los estomas en cavidades, cutículas gruesas y cerosas en combinación con tejidos suculentos, metabolismo CAM, etc. (Witowski y Lamont, 1991; Tilman, 1988). Las plantas cultivadas con mayor tolerancia y la mayoría de las plantas nativas de zonas desérticas caen en esta categoría de tolerantes evitadoras de la deshidratación. Estas plantas no logran tolerar potenciales de agua menores a -4.0 Mpa.

Las plantas que verdaderamente soportan la deshidratación son raras, estas especies son capaces de soportar potenciales de agua desde -1.2 hasta -10 Mpa o incluso menos. Un ejemplo de planta tolerante a la deshidratación es el helecho epifítico *Polipodium spp.* llamado helecho de la resurrección, estas plantas toleran potenciales hídricos de varios cientos de Mpa, siendo capaces de continuar normalmente su crecimiento al encontrarse en un ambiente húmedo. Esta habilidad extrema hace a estas plantas sujetos interesantes para el estudio de los mecanismos de tolerancia al estrés. Siendo éste fenómeno poco entendido (Bewley y Krochko, 1982).

Estrés biótico

Al igual que ocurre con el estrés inducido por factores abióticos, las interacciones de las plantas con microorganismos simbióticos (patógenos, mutualistas o saprofitos) o con organismos herbívoros como los insectos, dan lugar a cascadas de señalización que bajo las condiciones adecuadas permite que los vegetales desarrollen una adecuada asociación con los organismos benéficos como *Rhizobium spp.* o bien que inicien reacciones de defensa en contra de patógenos o herbívoros (Benavides-Mendoza, 2002).

Resistencia Sistémica Adquirida (RSA) y Resistencia Sistémica Inducida (RSI).

Ryals *et al.* (1994) describen que al presentarse una infección por patógenos las plantas inducen un tipo de resistencia a largo plazo, de amplio espectro y de tipo sistémico que permite resistir posteriores infecciones. Esta respuesta de resistencia sistémica (RS) ha sido conocida por muchos años bajo diferentes nombres como inmunidad fisiológica inducida o resistencia sistémica adquirida (SAR). El acrónimo RSI indica el tipo de Resistencia Sistémica Inducida por un microorganismo no patógeno (como los encontrados en la rizosfera), mientras que la SAR indica el tipo de Resistencia Sistémica Adquirida originada en todos los tejidos de la planta como resultado de la infección por un patógeno. La SAR es parte del repertorio de defensa de las plantas contra los patógenos y es un mecanismo diferente a los descritos como barreras físicas, entrelazamiento de las proteínas de la pared celular, biosíntesis de fitoalexinas, respuesta hipersensible y cambios fisiológicos inducidos por el etileno. La SAR no parece relacionarse con las respuestas inducidas por el herbivorismo o por un estímulo osmótico.

Un enfoque muy útil para el estudio de una respuesta bioquímica tan compleja como la SAR consiste en identificar marcadores sencillos de medir y que correlacionan de forma precisa con el proceso biológico. En ese sentido se han aislado muchos cDNAs que se expresan en tejidos no infectados durante el mantenimiento de la SAR. En el sistema modelo tabaco/TMV se encontró que fueron inducidos coordinadamente en tejidos no infectados de plantas inoculadas al menos nueve familias de genes, los cuales mantuvieron un nivel estable de mRNA. Estas familias de genes fueron llamadas colectivamente “genes SAR” (Ward *et al.*, 1991).

Los agentes abióticos que inducen resistencia, como el AS y el ácido 2,6- dicloroisonicotínico, inducen el mismo espectro de expresión de los genes SAR en niveles comparables a los desencadenados por la SAR frente a un patógeno. En conclusión, la expresión de los genes SAR se asocia con el inicio del estado de resistencia. (Ward *et al.*, 1991).

Transducción de señales en la resistencia sistémica adquirida.

El primer paso en el desarrollo de la SAR es el reconocimiento de la infección de patógenos por una planta. Una vez que la planta reacciona al patógeno, se liberan señales que disparan la resistencia en los tejidos adyacentes y en los más lejanos. Es importante señalar, sin embargo, que no todas las interacciones planta-patógeno dan lugar a la inducción de SAR. Las interacciones compatibles (que no inducen una respuesta hipersensible y por lo tanto permiten el establecimiento del patógeno) pueden inducir la SAR, sin implicar necesariamente una reacción de resistencia gene a gene (Kuc, 1982). Se ha propuesto que el AS es una señal que dispara la SAR ya que su concentración aumenta de forma dramática después de la infección por un patógeno (Malamy *et al.*, 1990).

Prolina

Uno de los procesos fisiológicos más sensibles al déficit de agua es el crecimiento celular, de manera que la sequía reduce la expansión y el área foliar. Cuando el déficit hídrico es severo, se acelera la senescencia de hojas maduras (Hsiao, 1973).

Las respuestas metabólicas de las plantas a la deshidratación son diversas y complejas, incluyendo la acumulación de sustancias que no son constituyentes normales de las células; tal es el caso de la prolina, aminoácido cuya concentración se incrementa notoriamente en condiciones de sequía, en alta o baja temperatura, o por deficiencias nutrimentales (Nolte *et al.*, 1997).

Se ha sugerido que la acumulación de éste aminoácido representa un mecanismo compensatorio para la mejor sobrevivencia de las plantas durante el periodo de estrés, actuando como un regulador osmótico (Aspinall & Paleg, 1981), un protector contra la desnaturación enzimática (Paleg, *et al.*, 1984), una reserva de carbono y nitrógeno (Fukutaku

& Yamada, 1984) y aún como un estabilizador de la maquinaria para la síntesis de proteína (Kardpal & Rao, 1985).

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar el efecto de la diformil úrea para el manejo de estrés abiótico en el cultivo de maracuyá, en etapa de vivero.

Objetivos específicos

- Cuantificar variables fisiológicas que permitan determinar la variación existente entre los tratamientos propuestos.
- Medir la concentración de prolina para determinar sus efectos en la tolerancia al estrés abiótico.
- Establecer la dosis más adecuada para la zona con respecto a los resultados obtenidos en el experimento.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Localización: El experimento se llevó a cabo en la granja Montelindo de la universidad de caldas, ubicada a 38 kilómetros desde Manizales, en la vereda Santágueda, municipio de Palestina, a una altitud de 1.010 metros, una temperatura media de 22.8 grados centígrados, una precipitación promedio anual de 2.200 mm, y una humedad relativa de 76%.

Montaje del ensayo

Se dispuso para el experimento de un vivero con techo en cubierta plástica calibre 4 transparente con filtro U.V de 5 m ancho x 5 m largo para un área de 25 m², al interior se ubicaron las plantas de maracuyá en bolsas para vivero de 20 x 50 cm. Las bolsas fueron llenadas con suelo de textura franco limosa de horizonte A proveniente de la granja Montelindo el cual fue sometido a desinfección, luego se realizó la siembra de la semilla de maracuyá amarillo recolectado de los predios del mismo sitio, siguiendo cada uno de los pasos dispuestos en el protocolo de CIAT (2012).

El manejo agronómico de las plantas que fueron evaluadas en etapa de pos vivero bajo condiciones semi controladas, fue mediado por la metodología desarrollada en la granja para el establecimiento del cultivo comercial de maracuyá incluyendo las recomendaciones de CIAT (2012).

El ensayo se realizó empleando un diseño en parcelas divididas con un arreglo de bloques completos al azar (BCA); teniendo como parcela principal los niveles de humedad para el sustrato suelo en cada bolsa del vivero (condición óptima de capacidad de campo, Punto de Marchitez Permanente – PMP inicial y una condición intermedia entre las dos anteriores) y al interior de cada una ellas 5 tratamientos con 4 repeticiones. El modelo estadístico para el análisis de datos está dado por la expresión: $Y_{ij} = \mu + PM + T_i + B_j + E_{ij}$, la unidad experimental (UE) fue de 3 plantas. El método de análisis de los datos fue ANOVA, para las diferencias entre los tratamientos se aplicó la prueba comparativa Duncan con un nivel de confianza del 95% y una tasa de error del 5%.

Cada repetición de las cuatro planteadas por tratamiento constó de 10 plantas. La distribución de cada repetición se asignó aleatoriamente, la unidad experimental (3 plantas) por tratamiento, fue tomada de la zona central de las 10 plantas para reducir al máximo la interacción de las plantas con otros tratamientos. Se siguieron todos los protocolos y cuidados como fertilizaciones y riegos programados con el fin de conservar el buen estado de las plantas (manejo agronómico mencionado anteriormente), hasta el momento de establecer las variaciones de humedad en los sustratos de cada una de las bolsas de las plantas de maracuyá en el vivero (tres pares de hojas verdaderas completamente extendidas y un desarrollo de raíces en el sustrato de al menos el 60%).

Los tratamientos establecidos son descritos a continuación (tabla 1).

Tabla 1: Tratamientos para el experimento en maracuyá.

Tratamientos	Descripción
T1	Diformil úrea* 1 cc/l (recomendada).

T2	Diformil úrea* 1,5 cc/l (50% por encima de la dosis recomendada).
T3	Diformil úrea* 0,5 cc/l (50% por debajo de la dosis recomendada).
T4	KCl y úrea (1:1) 1 g/l
T5	Testigo absoluto.

*Diformil úrea contenida en el producto Forge® (Ficha técnica en anexo 1).

Aplicaciones foliares de diformil úrea

Se realizaron las aplicaciones de diformil úrea según los tratamientos descritos en la tabla 1, el primer momento para dicha actividad fue cuando las plántulas de maracuyá tenían al menos tres pares de hojas verdaderas completamente extendidas y un desarrollo de raíces en el sustrato de al menos el 60%.

El equipo utilizado fue de espalda o mochila de presión hidráulica marca Royal Cóndor dotado con una boquilla de cono completo, la presión de trabajo fue de 2 kg/cm² aproximadamente.

La técnica fue con pantalla y dirigida sugerida por Pérez (2009) al área foliar de cada una de las plantas que componían los diferentes tratamientos.

Adicionalmente se aplicaron a los 20, 40 y 60 días después de la primera aplicación, bajo los mismos criterios descritos con anterioridad (equipo y técnica).

Variabes a evaluar

Fisiológicas: semanales a partir del establecimiento de los tres niveles de humedad.

Número de hojas verdaderas y desplegadas (tasa de emisión de hojas a través del tiempo) y diámetro del tallo en cm, mediante la utilización de un calibrador o nonio.

Determinación de prolina de acuerdo con el método propuesto por Hurtado-Salazar, A. *et al.* (2017) una semana después de establecidos los tratamientos y una semana después de la última aplicación de diformil úrea (60 días después de la primera aplicación).

Procesamiento de muestras

- 1- Maceras 0,5 g de muestra, adicionando 5 ml de ácido sulfosalicilico al 3%, y agitar 20 minutos.

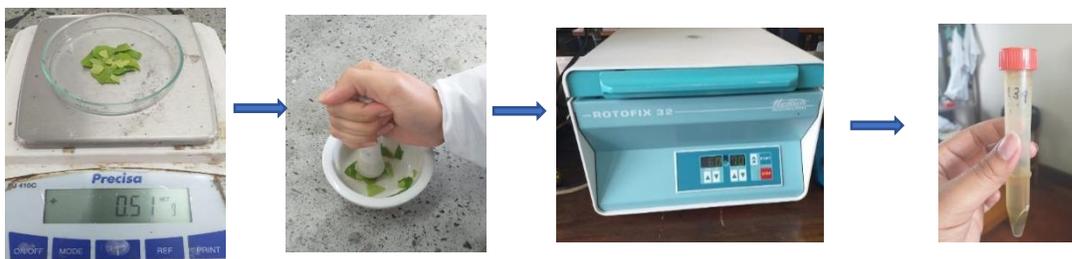


Figura 2: Pesaje de la muestra- Figura 3: Macerado—Figura 4: Centrifugación(6000 rpm durante 10 minutos)— Figura 5: Obtención del precipitado (Figuras 1 a 4).

En un tubo de vidrio cubierto con papel aluminio, tomar: 1 ml de sobrenadante, 1 ml de ninhidrina tibia, y 1 ml de ácido acético glacial tibio.



Figura 6: Cobertura con papel aluminio de los tubos y Adición de reactivos

- 2- Vortex 20 segundos y baño maría 1 hora.



Figura 7: Baño maría

3- Enfriar con hielo, dejar reposar 15 minutos.



Figura 8: Choque térmico de las muestras

4- Adicionar 3 ml de tolueno y agitar en vortex 60 segundos.



Figura 9: Adición de tolueno para proceder a la lectura.

5- Colectar la fase superior de los tubos de vidrio, y leer absorbancia a 520 nm.



Figura 10: Lectura de muestras en el espectrofotómetro en celdas de cuarzo.

Índice de eficiencia productiva sobre la materia seca: al final del ensayo se estableció la relación entre el peso fresco y el peso seco de raíz y parte aérea de cada unidad experimental del ensayo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis de variables de crecimiento.

El análisis de varianza para las dos variables evaluadas en campo a través del tiempo (Número de Hojas -NH- y Diámetro del Tallo -DT-) evidenció diferencias altamente significativas ($P < 0,01$), en los niveles de humedad (Capacidad de campo, Punto de Marchitez Permanente Inicial y punto de humedad intermedio). Los tratamientos no presentaron diferencias estadísticas, caso similar en la interacción niveles de humedad por tratamiento excepto en el número de hojas 6 y 7 (Tabla 2).

El ANOVA para las variables en evaluación indicó que no existen interacciones significativas entre los niveles de humedad y los tratamientos.

Según Luna-Flores, W. *et al.* (2012), las variables de crecimiento (altura, longitud de la raíz, número de hojas y biomasa) no fueron afectadas por el estrés hídrico. Resultados similares se obtuvieron en un estudio en invernadero con *Albizia lebeck*, *Lysiloma latisiliquum* y *P. Piscipula* durante 2 meses de aplicación de tres dosis de riego: riego continuo (1000 ml cada tercer día), riego intermedio (500 ml cada 15 días) y déficit de riego (250 ml cada 30 días)

donde no se mostraron diferencias significativas en la altura de las plántulas (Tamayo-Chin et al., 2012).

Tabla 2: Análisis de varianza para las variables Número de Hojas (NH) y Diámetro del Tallo (DT) de maracuyá a través del tiempo.

Fuente	DF	NH1	NH2	NH3	NH4	NH5	NH6	NH7	NH8	NH9	NH10
Niveles de humedad	2	<,0001**	<,0001**	<,0001**	<,0001**	<,0001**	<,0001**	<,0001**	<,0001**	<,0001**	<,0001**
Tratamiento	4	0,7402NS	0,7668NS	0,76NS	0,77NS	0,84NS	0,31NS	0,08NS	0,21NS	0,29NS	0,21NS
Niveles de humedad x Tratamiento	8	0,43NS	0,36NS	0,09NS	0,20NS	0,11NS	0,04 *	0,02*	0,39NS	0,48NS	0,32NS
Repetición	3	0,68NS	0,23NS	0,42NS	0,53NS	0,02 *	0,16NS	0,10NS	0,07NS	0,07NS	0,15NS
Promedio		7,56	7,64	7,02	6,69	6,48	5,58	5,83	4,92	4,681564	4,407821
Fuente	DF	DT1	DT2	DT3	DT4	DT5	DT6	DT7	DT8	DT9	DT10
Niveles de humedad	2	0,03*	0,06NS	<,0001**	0,01*	0,01 *	0,01 *	<,0001**	0,01 *	0,02 *	0,01 *
Tratamiento	4	0,21NS	0,38NS	0,61NS	0,31NS	0,6SNS	0,22NS	0,35NS	0,25NS	0,33NS	0,49NS
Niveles de humedad x Tratamiento	8	0,10NS	0,20NS	0,68NS	0,37NS	0,14NS	0,24NS	0,20NS	0,39NS	0,29NS	0,24NS
Repetición	3	0,47NS	0,23NS	0,36NS	0,21NS	0,08NS	0,49NS	0,21NS	0,16NS	0,24NS	0,14NS
Promedio		4,08	4,66	5,07	5,22	5,40	5,43	5,51	6,32	5,64	6,26

NS: no significativo. ** Denota diferencias Altamente significativas ($P < 0,01$); *Denota diferencias significativas ($P < 0,05$). **NH**: Número de Hojas. **DT**: Diámetro de Tallos

Los niveles de humedad denominados capacidad de campo e intermedio presentaron el mejor comportamiento a través del tiempo con las variables evaluadas número de hojas (NH) y diámetro de tallo (DT). El nivel de humedad de punto de marchitez permanente inicial presento los menores valores de respuesta (Tabla 3).

Tabla 3: Pruebas comparativas de medias Duncan para el efecto de los diferentes niveles de humedad sobre las variables Numero de Hojas (NH) y Diámetro del Tallo (DT) en plantas de maracuyá a través del tiempo.

Variable	Niveles de humedad		
	Capacidad de campo	Intermedio	Punto Marchitez Permanente Inicial
Número de Hojas 1 (NH1)	7,68 ^a	8,33 ^a	6,64 ^a
Número de Hojas 2 (NH2)	1,53 ^b	8,92 ^a	6,46 ^c
Número de Hojas 3 (NH3)	6,75 ^b	8,10 ^a	6,24 ^b

Número de Hojas 4 (NH4)	6,53 ^b	7,83 ^a	5,68 ^c
Número de Hojas 5 (NH5)	6,83 ^a	7,27 ^a	5,32 ^b
Número de Hojas 6 (NH6)	5,25 ^b	6,45 ^a	5,03 ^b
Número de Hojas 7 (NH7)	5,68 ^b	6,60 ^a	5,19 ^b
Número de Hojas 8 (NH8)	4,70 ^b	5,75 ^a	4,30 ^b
Número de Hojas 9 (NH9)	4,40 ^b	5,62 ^a	4,02 ^b
Número de Hojas 10 (NH10)	4,13 ^b	5,17 ^a	3,92 ^b
Diámetro de tallo 1 (DT1)	4,35 ^a	4,08 ^{ab}	3,81 ^b
Diámetro de tallo 2 (DT2)	4,90 ^a	4,65 ^{ab}	4,44 ^b
Diámetro de tallo 3 (DT3)	5,40 ^a	5,20 ^a	4,61 ^b
Diámetro de tallo 4 (DT4)	5,45 ^a	5,37 ^a	4,85 ^b
Diámetro de tallo 5 (DT5)	5,67 ^a	5,53 ^a	5,00 ^b
Diámetro de tallo 6 (DT6)	5,65 ^a	5,60 ^a	5,03 ^b
Diámetro de tallo 7 (DT7)	5,82 ^a	5,65 ^a	5,05 ^b
Diámetro de tallo 8 (DT8)	6,55 ^a	6,53 ^a	5,86 ^b
Diámetro de tallo 9 (DT9)	5,83 ^a	5,82 ^a	5,27 ^b
Diámetro de tallo 10 (DT10)	6,57 ^a	6,40 ^a	5,81 ^b

El análisis de varianza para las variables peso fresco raíz y peso seco raíz (PFR y PSR) y peso fresco aéreo y peso seco aéreo (PFA y PSA), indicó que no existe diferencias significativas en las fuentes niveles de humedad, tratamientos, y la interacción niveles de humedad por tratamiento.

Caso contrario a lo encontrado por Polón, R. (2013), que dice que al someter al cultivo de frijol a un estrés hídrico en la fase vegetativa se incrementa el rendimiento en granos, el número de vainas por planta y la masa seca por planta con un menor consumo de agua respecto al tratamiento testigo (riego normal), los granos de frijoles con estrés presentaron un color más brillante respecto al testigo.

Tabla 4: Análisis de varianza para las variables peso fresco raíz y peso seco raíz (PFR y PSR) y peso fresco aéreo y peso seco aéreo (PFA y PSA) de maracuyá a través del tiempo.

Fuente	DF	PFR	PSR
Niveles de humedad	2	0,46NS	0,29NS
Tratamiento	4	0,10NS	0,30NS
Niveles de humedad x Tratamiento	8	0,27NS	0,41NS
Repetición	2	0,56NS	0,46NS
Promedio		0,04	0,03
Fuente	DF	PFA	PSA
Niveles de humedad	2	0,05 *	0,30NS
Tratamiento	4	0,26NS	0,48NS
Niveles de humedad x Tratamiento	8	0,02 *	0,32NS
Repetición	3	0,40NS	0,43NS
Promedio		0,11	0,05

Análisis del contenido de prolina en la interacción contenido de humedad del suelo por tratamientos.

La determinación de la concentración de prolina en plantas de maracuyá presento valores positivos y diferenciados en el nivel de humedad del suelo denominado punto de marchitez permanente inicial con los tratamientos diformil urea (DU) de 1,5cc/l con un valor de 8,2 μ M, seguido de diformil urea (DU) 1cc/l con un valor de 5,45 μ M y diformil urea (DU) 0,5cc/l con 5,11 μ M. los tratamientos testigo y cloruro de potasio más urea presentaron los valores más bajos con concentraciones μ M de 3,23 y 0,29 respectivamente.

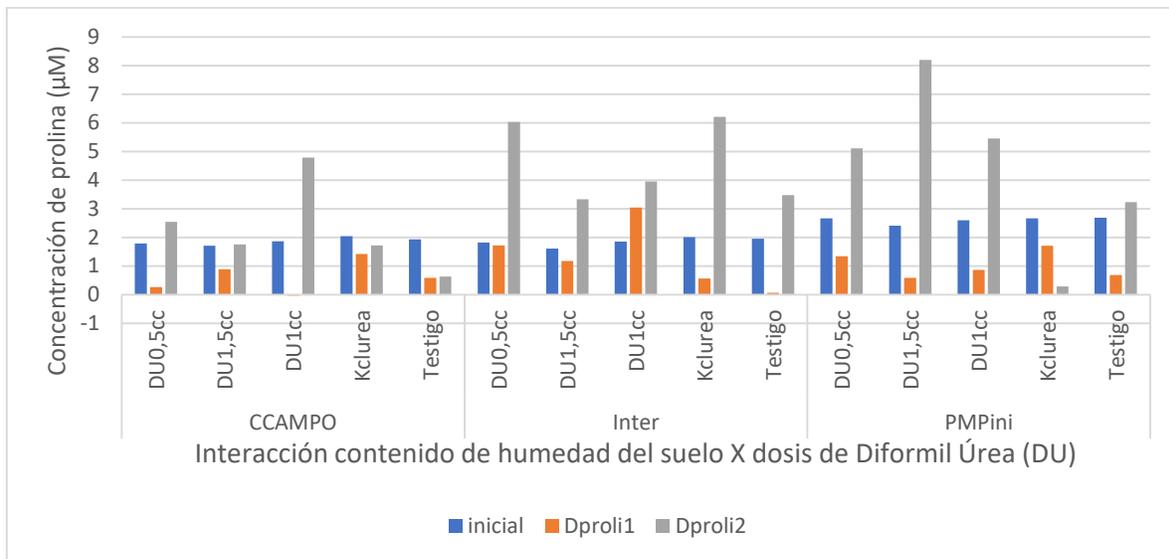
De acuerdo con Ashraf *et al.* (2007) el contenido de prolina es bajo en plantas que crecen en condiciones adecuadas. Cuando las plantas se enfrentan a situaciones de estrés hídrico se ha encontrado que los contenidos de prolina aumentan y es así como se da inicio a la acción osmótica protegiendo a la planta ante la acelerada deshidratación. La prolina es uno de los osmolitos más estudiados en tomate y su concentración se incrementa significativamente

después de la exposición al estrés, aunque no se había logrado un consenso entre la tolerancia al estrés y la acumulación de prolina.

Es importante mencionar que los osmolitos son compuestos que representan una función importante en el ajuste osmótico, y protegen a las células de las especies reactivas de oxígeno (ROS). En condiciones de estrés o déficit hídrico la actividad enzimática (procesos de biosíntesis) de muchas plantas actúa sobre osmolitos tales como la prolina, las poliaminas y los compuestos cuaternarios de amonio como la glicina betaina, la sacarosa, los polioles y diversos oligosacáridos (Tamura et al., 2003).

Por lo cual se puede tener en cuenta la información expuesta por los autores Claeys e Inzé, (2013) donde mencionan que es así como la acumulación de osmolitos a nivel celular es uno de los mecanismos de tolerancia a la sequía. La cual tiene como consecuencia la osmoprotección de diversas estructuras celulares de las plantas y está dada por la capacidad estabilizadora de algunos de estos solutos sobre macromoléculas como las proteínas y los sistemas de membrana celulares. Moléculas como prolina y glicina-betaína, pueden inducir la formación de puentes de hidrógeno alrededor de proteínas, preservando su estado original (Taiz y Zeiger, 2010).

Algunos autores plantean que la acumulación se considera como un síntoma de daño y no de tolerancia al estrés, mientras que otros autores informan que los incrementos observados en los niveles de prolina, estuvieron relacionados principalmente con mecanismos de tolerancia a corto plazo, sin embargo, la duración depende de la intensidad y progresión del estrés (Ashraf et al., 2007; Amirjani 2010; Pineda et al., 2012).



Gráfica 1. Análisis de pruebas comparativas de medias (Duncan) para la interacción niveles de humedad por tratamiento sobre la concentración de prolina (μM) en plantas de maracuyá.

CONCLUSIONES

- Las variables de crecimiento evaluadas número de hojas (NH) y diámetro de tallo (DT) presentaron diferencias altamente significativas en los diferentes niveles de humedad, para los tratamientos y la interacción niveles de humedad por tratamiento no presentaron diferencia alguna.
- Los niveles de humedad capacidad de campo e intermedio tuvieron los mejores valores de respuesta en las variables número de hojas (NH) y diámetro del tallo (DT), El nivel de humedad punto de marchitez permanente inicial presentó los valores más bajos de respuesta.
- Para las variables peso fresco y seco de la raíz y la parte aérea no existen diferencias significativas entre los niveles de humedad, tratamientos, y la interacción niveles de humedad por tratamiento.
- La determinación de la concentración de prolina en plantas de maracuyá presentó valores positivos en todos los niveles de humedad evaluados, siendo el más diferenciado la interacción punto de marchitez permanente inicial (PMPini) y diformil urea (DU) de 1,5cc/l con un valor de 8,2µM.

RECOMENDACIONES

- Replicar el experimento en condiciones de cultivo comercial de maracuyá.
- Incluir en las variables de respuesta componentes del rendimiento de producción en maracuyá, tales como kg/ha y calidad de la fruta obtenida.
- La mejor dosis de respuesta fue de diformil urea (DU) 1,5 cc/l, en función de ella evaluar distintos momentos de aplicación y su correspondiente concentración de prolina.

BIBLIOGRAFÍA

- AMIRJANI, M. R. 2010. Effect of salinity stress on grown, mineral composition, proline content, antioxidant enzymes of soybean. *Am. J Plant Physiol.*, vol. 5, no. 6, pp. 350-201.
- ASHRAF, M., FOOLAD, M. R. 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environ. Exp. Bot.*, vol. 59, pp. 206-216.
- Aspinall, D. & Paleg, L.G. (1981). Proline accumulation: Physiological Aspects. In: PALEG, L.G. & ASPINALL, D.(eds.). *Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants*. Australia, Academic Press, pp.205-241.
- Benavides-Mendoza, A. (2002). *Ecofisiología y Bioquímica del Estrés en Plantas*. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Departamento de Horticultura, Buenavista, Saltillo, Coah. México. 287 p. ISBN 968-844-042-6.
- Blum, A. (1988). 'Plant breeding for stress environments.' (CRC Press: Boca Raton, FL).
- Boyer, J.S. (1982). *Stress Physiology and the Distribution of Plants*. *BioScience* Vol.37, N° 1, How Plants Cope: Plant Physiological Ecology. Pp. 38-48.
- Camargo, G. (6 de noviembre de 2010). Blog EL MARACUYA. Consulta: febrero de 2018 Recuperado de: http://lamaracuya.blogspot.com.co/2010/11/valor-nutricional-del-maracuya_6157.html.
- CIAT – Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cultivo de Maracuyá (*Passiflora edulis f. flavicarpa*) establecido con Buenas Prácticas Agrícolas (BPA). (2012). Documento de Trabajo No. 219. 59 p.
- CLAEYS, H. Y INZÉ, D. 2013. The agony of choice: how plants balance growth and survival under waterlimiting conditions. *Plant Physiol.* 162, 1768-1779. Doi: <http://dx.doi.org/10.1104/> pp. 113.
- Cornejo Oviedo, Eladio H., Domínguez Calleros, P.A., Marmolejo Moncivais, J.G., Nívar Chaidler, J de J. (2004). Estrés hídrico en "Pinus engelmannii" Carr. , producido en vivero. *Investigación agraria. Sistemas y recursos forestales*, ISSN 1131-7965, Vol. 13, N° 3, 2004, págs. 443-451.

- ENA – Encuesta Nacional Agropecuaria. (2016). Boletín técnico ENA2015. Consulta: diciembre de 2017. Recuperado de: https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuario/enda/ena/2015/boletin_ena_2015.pdf
- Fukutaku, Y. & Yamada, Y. (1984). Sources of proline nitrogen in water-stressed soybean (*Glicine max L.*), 11. Fate of 15 N labelled protein. *Physiologia Plantarum*, 61: 622-628.
- Hsaio, T., Acevedo, E., Fereres, E. (1976). Water stress, growth and osmotic adjustment. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* 273, 479-500.
- Hsiao, T.C. (1973). Plant responses to water stress. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 24: 519-570.
- Hurtado-Salazar, A. Silva, DFP. Ceballos, N. Ocampo, J. Bruckner, CH. (2017). Proline and ions accumulation in four species of *Passiflora* under water-saline stress. *Comunicata Scientiae*, 8(2) (In Edition)
- Kardpal, R.P. & Rao, N.A. (1985). Alterations in the biosynthesis of proteins and nucleic acids in finger millet (*Eleucibe cirocana*) seedlings during wáter stress; and the effects of proline on protein biosynthesis. *Plant Science*, 40:73-79.
- Larcher, W. (1995). *Physiological Plant Ecology*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 506 p.
- Leiva, L. 2011. Manejo de problemas fitosanitarios del cultivo de gulupa. Consulta: febrero de 2018. Recuperado de: Colombia.<http://conectarural.org/sitio/sites/default/files/documentos/Manejo%20de%20problemas%20fitosanitarios%20del%20cultivo%20de%20gulupa.%20Medidas%20para%20la%20temporada%20invernal.pdf>
- Luna-Flores, W. et al. (2012), EFECTO DEL ESTRÉS HÍDRICO SOBRE EL CRECIMIENTO Y EFICIENCIA DEL USO DEL AGUA EN PLÁNTULAS DE TRES ESPECIES ARBÓREAS CADUCIFOLIAS. *Terra Latinoamericana*, vol. 30, núm. 4, 2012, pp. 343-353. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, A.C. Chapingo, México

- Malamy, J., J.P. Carr, D.F. Klessig, and I. Raskin. (1990). Salicylic acid: a likely endo-genous signal in the resistance response of tobacco to viral infection. *Science* 250:1002-1004.
- Nolte, H.D., A.D. Hanson, y D.A. Gage. (1997). Proline accumulation and methylation to proline betaine in Citrus: Implications for genetic engineering of stress resistance. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 122: 8-13.
- Paleg, L.G.; Steward, C.R. & Bradbeer, J.W. (1984). Proline and glycine betaine influence protein solvation. *Plant Physiology*, 75:974-978.
- PINEDA, B.; GARCÍA-ABELLÁN, J. O.; ANTÓN, T. 2012. Tomato: Genomic Approaches for Salt and Drought Stress Tolerance. *Improving Crop Resistance to Abiotic Stress*, vol. 1 & 2, pp. 1085-1120.
- Polo, R. (2013). Efecto de diferentes intensidades de estrés hídrico en la fase vegetativa en el cultivo del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Tomado de: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2071-00542013000400010
- Pugnaire, F., L.S. Endolz, and J. Pardos. (1994). Constrains by water stress on plant growth. In: *Handbook of Plant and Crop Stress*, M. Pesarakli, ed., Marcel Dekker, Inc. New York, Basel, Hong Kong.
- Ryals, J., S. Uknes, E. Ward. (1994). Systemic acquired resistance. *Plant Physiol.* 104:1109- 1112.
- Salinas A, H. (2014). Guía técnica para el cultivo de “maracuyá amarillo” (2014). Institución de Educación Técnica Profesional de Roldanillo Valle. 49 p.
- TAIZ, L. Y ZEIGER, E. 2010. *Plant physiology*. 5th ed. Sinauer Associates, Redwood City, CA. pp. 591-623.
- TAMURA, T., K. HARA, Y. YAMAGUCHI, N. KOIZUMI Y SANO, H. 2003. Osmotic stress tolerance of transgenic tobacco expressing a gene encoding a membrane-located receptor-like protein from tobacco plants. *Plant Physiol.* 131, 454-462.
- Varvel, G. E., W. W. Wilhelm, J. F. Shanahan, AND J. S. Schepers. (2007). An algorithm for corn nitrogen recommendations using a chlorophyll meter based sufficiency index. *Agron. J.* 99: 701-706.

- Ward, E.R., S.J. Uknes, S.C. Williams, S.S. Dincher, D.L. Wiederhold, A. Alexander, P. Ahl-Goy, J.-P. Métraux, J.A. Ryals. (1991). Coordinate gene activity in response to agents that induce systemic acquired resistance. *Plant Cell* 3:1085-1094.
- Witowski, E.T and Lamont, B. (1991). Leaf Specific mass confounds leaf density and thickness. *Oecologia* 88(4): 486-493.

ANEXOS

Anexo 1: Ficha tecnica Forge® - Stoller



Stoller Enterprises, Inc.

Bio-Forge®

2.0% nitrogen (N) composed primarily of N, N'- diformyl urea, 3.0% potash (K₂O)

U.S. Patent 6040273

Ensuring plant health through stress situations. Easy-to-apply at any time during the crop planting and growth cycle.

Bio-Forge is recommended for any crop under any form of stress. Bio-Forge facilitates normal cellular activity in abnormal stress conditions.

Benefits of Bio-Forge include:

- Increased growth of young plants and transplants
- Greater activity of buds, more branches, more fruit.
- Stops the physiological damage caused by insects
- Detoxifies the plant - Repairs herbicide and damage from toxins
- Overcomes the effects of drought

When plants encounter stress conditions they produce an excess of ethylene. This 'stress ethylene' impairs the plants cellular respiration. Bio-Forge purges this ethylene from the plant by replacing ethylene on the 'binding sites' within the cells mitochondria.

The benefits of allowing the plant to continue normal respiration are many. The plant can metabolise toxins giving more resistance to fungal, bacterial and viral diseases and herbicide damage.

Bio-Forge enables the plant to function under drought conditions. During respiration the plant can create cellular water, which can help the plant continue growth when there is a lack of external water. A single application can last for an entire season.

Bio-Forge can be applied to nursery crops, or any crop which needs rapid growth. Bio-Forge helps crops 'grow-off'. Bio-Forge can also be applied to transplants to alleviate the stress of transplanting creating quick uniform establishment.

4001 W. Sam Houston Parkway N, Suite 100; Houston, TX 77043, U. S. A.
Telephone: +1 713 461 1493 ♦ Fax: +1 713 461 4467 ♦ www.stollerusa.com