

UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

**Efecto de la aplicación foliar de boro
en el comportamiento fisiológico y
calidad de frutos en plantas de gulupa
(*Passiflora edulis* f. *edulis* Sims)
crecidas bajo condiciones de campo**

Ivonne Angélica Quiroga Ramos

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias Agrarias, Departamento de Agronomía
Bogotá, Colombia

II Efecto de la aplicación foliar de boro en el comportamiento fisiológico y calidad de
frutos en plantas de gulupa (*Passiflora edulis* f. *edulis* Sims) crecidas bajo
condiciones de campo

2017

Efecto de la aplicación foliar de boro en el comportamiento fisiológico y calidad de frutos en plantas de gulupa (*Passiflora edulis* f. *edulis* Sims) crecidas bajo condiciones de campo

Ivonne Angélica Quiroga Ramos

Tesis de investigación presentada(o) como requisito parcial para optar al título de:
Magister en Ciencias Agrarias

Director:

Ph.D., Ingeniero Hortícola, Gerhard Fischer – Facultad de Ciencias Agrarias

Codirectora:

Ph.D., Bióloga, Luz Marina Melgarejo – Departamento de Biología, Facultad de Ciencias

Línea de Investigación:

Fisiología de cultivos

Grupo de Investigación:

Fisiología del estrés y biodiversidad en plantas y microorganismos

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias Agrarias, Departamento de Agronomía

Bogotá, Colombia

2017

Dedicatoria

A mi adorada Cata,

En este camino recorrido, no estuve sola, siempre estuve contigo, y aunque al principio no te podía ver, solo sentir, sentía tu apoyo y motivación para culminar esta etapa de mi vida. Y ahora que te tengo en mis brazos no hay motivación más grande que tu presencia.

A mi lindo hogar, a mi compañero de viaje,

Hace más de una década esta ruta académica marco el inicio del sentimiento más mágico y emprendedor: el amor. Y ahora seguimos caminando con una nueva motivación para ir persiguiendo los sueños hasta la esquina del universo.

Agradecimientos

A Dios, por darme la oportunidad de vivir esta experiencia académica.

A mi familia, a Juan Camilo por su inmenso e incondicional apoyo durante esta etapa académica.

A mis directores de tesis, profesores Gerhard Fischer y Luz Marina Melgarejo, por la orientación y apoyo brindados durante el desarrollo del trabajo.

A la señora Carolina Rueda, por permitir el establecimiento del cultivo en su finca.

A mis compañeras de estudios Mildred Mayorga y Stephany Hurtado y su familia, quienes me brindaron un espacio en su hogar durante las largas jornadas de muestreo. A Stephany un gran agradecimiento por su apoyo incondicional.

A mis compañeros del grupo de investigación “Fisiología del estrés y biodiversidad en plantas y microorganismos” del departamento de biología de la Universidad Nacional de Colombia.

A Colciencias por participar en la financiación durante el periodo de abril del 2015 hasta febrero del 2016, participando en desplazamientos, días de campo y suministros de consumibles y reactivos para determinaciones fisiológicas, dentro del proyecto “Ecofisiología, nutrición mineral y manejo integrado de plagas y enfermedades en aguacate, curuba, gulupa y tomate de árbol orientados hacia su manejo agronómico, como materia prima para el desarrollo de productos de interés comercial” liderado por Luz Marina Melgarejo, de la “Red nacional para la bioprospección de frutas tropicales-RIFRUTBIO”, código 550854332012, CONTRATO RC No. 0459-2013.

Así mismo agradezco a Colciencias por otorgar beneficio de la beca-pasantía como joven investigador Colciencias durante 12 meses (abril del 2016 hasta abril del 2017), según

VII Efecto de la aplicación foliar de boro en el comportamiento fisiológico y calidad de
I frutos en plantas de gulupa (*Passiflora edulis f. edulis* Sims) crecidas bajo
condiciones de campo

resolución 813 del 05 de abril del 2016, dentro del grupo de investigación “Fisiología del estrés y biodiversidad de plantas y microorganismos” liderado por Luz Marina Melgarejo.

A don Sergio Lloreda representante de OCATI por el apoyo a la financiación de mis estudios de maestría.

Resumen

La gulupa es uno de los principales frutales exóticos producidos en Colombia y exportado a diferentes mercados internacionales. Algunos de los principales problemas que afectan la producción del cultivo, están relacionados con la floración y fructificación, debidos principalmente a limitaciones nutricionales. El Boro (B) es un micronutriente implicado en diferentes procesos durante el crecimiento y desarrollo de las plantas, incluyendo la floración, cuajado y desarrollo de los frutos. La presente investigación tuvo como objetivo, evaluar el efecto de la aplicación foliar de B en el comportamiento fisiológico y calidad de los frutos de plantas de gulupa bajo condiciones de campo. La aplicación de B se realizó a diferentes concentraciones 0 kg ha^{-1} (T0); $0,3 \text{ kg ha}^{-1}$ (T50); $0,6 \text{ kg ha}^{-1}$ (T100) y $0,9 \text{ kg ha}^{-1}$ (T150) de ácido bórico en la etapa de botón floral y cuajado de fruto. Se evaluó el intercambio gaseoso, la fluorescencia de la clorofila, contenido de clorofilas y carotenoides en dos ciclos productivos, se realizó seguimiento de crecimiento de ramas productivas, órganos reproductivos y frutos, y se evaluaron propiedades fisicoquímicas de los frutos. Se encontró para los dos ciclos productivos que la deficiencia de B (0 kg ha^{-1} de B) presentó las limitaciones más marcadas en el intercambio gaseoso de las plantas, mostrando los valores más bajos A_N , asociado a bajos contenidos de clorofilas y carotenoides, y en contraste se presentaron los contenidos más altos de azúcares totales y reductores. Así mismo se encontró que bajo el T0 las plantas presentaron la menor longitud de ramas secundarias, menor emisión de botones y frutos, menor porcentaje de cuajado de fruto, y frutos con menores SST y bajo pH. Para el segundo ciclo se resalta que el T100 y T150 presentaron un leve efecto negativo sobre la mayoría de variables evaluadas, sugiriendo una acumulación de este elemento en las hojas de gulupa, lo cual se refleja en el incremento de B en la masa seca de las hojas de gulupa. En general las plantas de gulupa a dosis de $0,6$ y $0,3 \text{ kg ha}^{-1}$ de B para el primer y segundo ciclo productivo respectivamente presentaron las mejores características fisiológicas, cuajado de fruto y frutos con mejores características poscosecha.

Palabras clave: intercambio gaseoso, fluorescencia de la clorofila, cuajado de fruto, características poscosecha de frutos.

Abstract

Gulupa (or purple passionfruit) is one of the main exotic fruits produced in Colombia and exported to different international markets, especially United States and Europe. Crop production is affected by different problems, but the most important in Colombia is related to flowering and fruiting, due to nutritional limitations. Boron (B) is an essential micronutrient involved in different processes during plant growth, including flowering, fruit set and development. The aim of this study was to evaluate the effects of foliar boron sprays on the physiological performance, yield and fruit quality of gulupa plants, grown under field conditions. The application of B was performed at different doses 0 kg ha⁻¹ (T0); 0,3 kg ha⁻¹ (T50); 0,6 kg ha⁻¹(T100) y 0,9 kg ha⁻¹ (T150) of boric acid in the stage of floral bud and fruit set. Gaseous exchange, chlorophyll fluorescence, chlorophyll and carotenoid content were evaluated in two productive cycles, followed by the growth of productive branches, reproductive organs and fruits, and physicochemical properties of fruits were evaluated. It was found for the two productive cycles that the B deficiency (0 kg ha⁻¹ of B) presented the most marked limitations in the gas exchange of the plants, showing the lowest A_N values, associated with low contents of chlorophylls and carotenoids, and in contrast the higher contents of total and reducing sugars were presented. It was also found that under the T0 the plants showed the lowest length of secondary branches, lower emission of buds and fruits, lower percentage of fruit set, and fruits with lower SST and low pH. For the second cycle, it is emphasized that T100 and T150 presented a slight negative effect on most of the evaluated variables, suggesting an accumulation of this element in leaves of gulupa, which is reflected in the increase of B in the dry mass of the Leaves of gulupa. In general, the gulupa plants at doses of 0.6 and 0.3 kg ha⁻¹ of B for the first and second productive cycle respectively presented the best physiological characteristics, fruit set and fruits with better postharvest characteristics.

Keywords: Gaseous exchange, chlorophyll fluorescence, fruit set, fruit postharvest characteristics.

Contenido

	Pág.
Resumen	IX
Lista de figuras.....	XIII
Lista de tablas	XV
Lista de Símbolos y abreviaturas.....	XVI
Introducción	19
Capítulo I: Respuesta fisiológica y bioquímica de plantas de gulupa a la aplicación foliar de boro bajo condiciones de campo	24
1.1 Introducción	24
1.2 Materiales y métodos.....	26
1.2.1 Material vegetal y condiciones de crecimiento.....	26
1.2.2 Variables climáticas.....	28
1.2.3 Tratamientos foliares con boro	29
1.2.4 Curvas de respuesta fotosintética a la luz (A_N /PPFD).....	30
1.2.4 Intercambio gaseoso, fluorescencia de la clorofila y contenido de clorofilas	31
1.2.5 Contenido de clorofilas a, b, total y carotenoides en hojas	32
1.2.6 Contenido de azúcares totales y reductores en hojas.....	33
1.2.7 Contenido de boro foliar	34
1.2.8 Análisis estadístico	34
1.3 Resultados.....	35
1.3.1 Curvas A_N /PPDF	35
1.3.2 Intercambio gaseoso y fluorescencia de la clorofila.....	36
1.3.3 Pigmentos, azúcares y concentración foliar de B en tejidos	41
1.4 Discusión	47
1.5 Conclusiones	58
2. Capítulo II: Desarrollo fenológico de plantas de gulupa en etapa productiva bajo la aplicación foliar de boro en condiciones de campo	60
2.1 Introducción	60
2.2 Materiales y métodos.....	63
2.2.1 Material vegetal y condiciones de crecimiento.....	63
2.2.3 Tratamientos foliares con boro	64
2.2.4 Desarrollo de ramas productivas	64
2.2.5 Desarrollo del botón floral.....	64
2.2.6 Cuajado de fruto.....	65

2.2.7 Desarrollo del fruto.....	65
2.2.8 Emisión de botones florales y frutos.....	65
2.2.9 Análisis estadístico.....	66
2.3 Resultados	66
2.3.1 Desarrollo de ramas productivas.....	66
2.3.2 Desarrollo de botones florales.....	70
2.3.3 Cuajado de fruto	71
2.3.3 Desarrollo de frutos.....	72
2.3.4 Emisión de botones florales y formación de frutos	74
2.4 Discusión	76
2.5 Conclusiones	82
3. Capítulo III: Características físicoquímicas de frutos de gulupa bajo la aplicación foliar de boro en condiciones de campo.....	83
3.1 Introducción.....	83
3.2 Materiales y métodos	85
3.2.1 Localización de la investigación, material vegetal y aplicación de tratamiento foliar	85
3.2.2 Recolección del material vegetal	85
3.2.3 Características físicas de los frutos.....	86
3.2.4 Características químicas de los frutos	86
3.2.5 Análisis estadístico	87
3.3 Resultados	88
3.3.1 Peso, firmeza y grosor de epidermis	88
3.3.2 Color	90
3.3.3 pH, sólidos solubles totales y acidez total titulable	92
3.5 Conclusiones	97
4. Conclusiones y recomendaciones generales.....	98
4.1 Conclusiones.....	98
4.2 Recomendaciones.....	99
5. Bibliografía.....	100
Anexos.....	119

Lista de figuras

Fig. 5-1. Curvas de respuesta fotosintética a la luz ($A_N/PPFD$) en plantas de gulupa en etapa de producción bajo diferentes dosis de aplicación foliar con B.....	Pag. 33
Fig. 5-2. Intercambio gaseoso en plantas de gulupa bajo diferentes dosis de aplicación foliar con B.....	35
Fig. 5-3. Uso eficiente del agua en plantas de gulupa bajo diferentes dosis de aplicación foliar con B.....	37
Fig. 5-4. Fluorescencia de la clorofila en plantas de gulupa bajo diferentes dosis de aplicación foliar con B. Eficiencia máxima potencial de operación del fotosistema II (F_v/F_m)	38
Fig. 5-5. Fluorescencia de la clorofila en plantas de gulupa bajo diferentes dosis de aplicación foliar con B. Eficiencia real de operación del fotosistema II (ϕ_{PSII})	39
Fig. 5-6. Contenido de clorofilas en hojas de gulupa a diferentes dosis de aplicación foliar con B.....	41
Fig. 5-7. Contenido de carotenoides en hojas de gulupa a diferentes dosis de aplicación foliar con B.....	42
Fig. 5-8. Contenido de azúcares totales en hojas de gulupa a diferentes dosis de aplicación foliar con B.....	43
Fig. 5-9. Contenido de azúcares reductores en hojas de gulupa a diferentes dosis de aplicación foliar con B.....	44
Fig. 5-4. Desarrollo de ramas en plantas de gulupa bajo diferentes dosis foliares de B.....	66
Fig. 5-5. Desarrollo de botones florales de plantas de gulupa bajo diferentes dosis foliares de B.....	69
Fig. 5-6. Cuajado de frutos en plantas de gulupa bajo diferentes dosis foliares de B.....	70
Fig. 5-7. Desarrollo de frutos en plantas de gulupa bajo diferentes dosis foliares de B.....	71
Fig. 5-8. Emisión de órganos reproductivos y productivos en plantas de gulupa bajo la aplicación de dosis foliares de B	73

Fig. 5-9. Peso fresco de frutos de gulupa bajo diferentes dosis foliares de B.....	86
Fig. 5-2. Peso fresco de frutos de gulupa bajo diferentes dosis foliares de B.....	87
Fig. 5-3. Grosor de la epidermis de frutos de gulupa bajo diferentes dosis foliares de B.....	88
Fig. 5-4. Características del color en frutos de gulupa bajo diferentes dosis de aplicación foliar de B.....	89
Fig. 5-5. pH en frutos de gulupa bajo diferentes dosis foliares de B.....	90
Fig. 5-6. Características poscosecha de frutos de gulupa bajo diferentes dosis foliares de B.....	91

Lista de tablas

Tabla 5-1. Tratamientos foliares con B para el cultivo de gulupa.....	Pag. 30
Tabla 5-2. Parámetros estimados a partir del ajuste de curva de respuesta fotosintética a la luz ($A_N/PPFD$) al modelo de Michaelis Menten, en plantas de gulupa en estado productivo crecidas en el municipio de Pasca, bajo diferentes dosis de aplicación foliar con B.....	36
Tabla 5-3. Estimación de los parámetros del modelo Gompertz para la variable crecimiento de las ramas secundarias en plantas de gulupa sometidas a diferentes dosis de aplicación foliar de B, en dos ciclos de crecimiento.....	69
Tabla 5-2. Estimación de los parámetros del modelo Gompertz para la variable número de entrenudos de plantas de gulupa sometidas a diferentes dosis de aplicación foliar de B, en dos ciclos de crecimiento.....	70
Tabla 5-3. Estimación de los parámetros del modelo Gompertz para la variable diámetro del fruto de plantas de gulupa sometidas a diferentes dosis de aplicación foliar de B, en dos ciclos de crecimiento.....	74

Lista de Símbolos y abreviaturas

Símbolo	Término	Unidad
A_N	Tasa fotosintética	$\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
$A_{N\text{máx}}$	Tasa fotosintética máxima (con PAR saturante)	$\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
ATT	Acidez total titulable	% ácido
BBCH	Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt and Chemical Industry	
C^*	Croma	
C_a	CO_2 atmosférico o ambiental	$\mu\text{mol mol}^{-1}$
CHL	Clorofilas	
C_i	CO_2 subestomático o interno	
C_i/C_a	Relación carbono interno / carbono atmosférico	
DPV	Déficit de presión de vapor	kPa
E	Transpiración	$\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
F_v/F_m	Eficiencia fotoquímica máxima potencial del fotosistema II	
g_s	Conductancia estomática	$\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
h°	Grado hue (tono)	°
K	Constante de saturación por luz	
L^*	Luminosidad	
PAR	Radiación fotosintéticamente activa	$\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
PCL	Punto de compensación lumínico	$\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
PPFD	Densidad de flujo fotónico fotosintético	$\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
PSL	Punto de saturación lumínico	$\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
Q_A	Quinona A	
PSII	Fotosistema II	
R_D	Respiración en oscuridad	$\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
Rubisco	Ribulosa 1,5-bifosfato carboxilasa/oxigenasa	
RuBP	Ribulosa 1,5-bifosfato	
SST	Sólidos solubles totales	°Brix
WUE_e	Uso eficiente del agua extrínseco	$\mu\text{mol CO}_2/\text{mmol H}_2\text{O}$
WUE_i	Uso eficiente del agua intrínseco	$\mu\text{mol CO}_2/\text{mol H}_2\text{O}$
Φ	Eficiencia fotosintética	$\mu\text{mol CO}_2 \mu\text{mol fotones}^{-1}$
Φ_{PSII}	Eficiencia efectiva de operación del PSII	
Ψ_{foliar}	Potencial hídrico foliar	MPa

Introducción

Colombia con 170 especies vegetales del género *Passiflora* se considera como el país con mayor riqueza a nivel mundial de pasifloras (Ocampo y Wyckhuys, 2012), es el género de mayor importancia económica dentro de la familia Passifloraceae, debido a que son especies apetecidas por sus propiedades organolépticas y son usadas para la industria con un enfoque de bioprospección (Contreras *et al.*, 2011). La especie *Passiflora edulis* f. *edulis* Sims conocida a nivel nacional como gulupa y a nivel internacional como purple passion fruit, es de los frutos comestibles más comercializados en los mercados nacionales e internacionales (Angulo, 2009). La gulupa es originaria del sur de Brasil, los primeros cultivos comerciales se registraron en Australia, Nueva Zelanda, Hawái y Kenia (Greig, 1943); sin embargo, en las últimas décadas el centro de producción es Latinoamérica (Schotsmans y Fischer, 2011).

En Colombia, la gulupa es la tercera fruta más exportada después del plátano y la uchuva (sin incluir el banano), registrándose para el 2014 un valor de las exportaciones de US \$17 millones, (Agronet, 2015). Las exportaciones de gulupa por Colombia, han venido creciendo desde el 2010 a una tasa de 15 % año⁻¹ (Legiscomex, 2013). Para el año 2012 los Países Bajos, Alemania, y Francia fueron los principales mercados destino de esta fruta.

Colombia presenta condiciones agroclimáticas óptimas para el desarrollo comercial del cultivo de la gulupa, las altitudes adecuadas para el desarrollo del cultivo están entre los 1.400 y 2.200 msnm, la temperatura óptima está en el rango de los 15 y 20 °C, el requerimiento hídrico entre 1.500 a 2.500 mm anuales, suelos con pH entre 6,5 a 7,5 (Fischer *et al.*, 2009). Las anteriores condiciones agroclimáticas en conjunto con un adecuado manejo del cultivo incluyendo prácticas como podas, manejo fitosanitario y fertilización garantizan una producción de calidad. Se considera que la nutrición y la

fertilización son los aspectos más importantes para esta especie, debido a que influye directamente en la productividad y calidad de fruto (Ocampo y Wyckhuys 2012).

Se ha documentado que la producción de algunos frutales se ve comprometida debido a la pérdida de flores y frutos durante el cuajamiento, la cual está relacionada con factores bióticos, abióticos, actividad hormonal y estado nutricional de la planta (Mengel *et al.*, 2001; Lahav y Whiley, 2002). En algunas especies frutales se desconocen las respuestas con relación a los patrones de absorción de nutrientes; sin embargo, se ha demostrado que la deficiencia de algunos micronutrientes, principalmente el boro (B), están asociadas a problemas para la floración y fructificación (Muhammad *et al.*, 2015).

En este sentido, el B es un micronutriente esencial en la nutrición vegetal, debido a su papel en la fase reproductiva de las plantas (Botta *et al.*, 2007). El B en la solución del suelo se encuentra en forma de ácido bórico (H_3BO_3), el cual es altamente soluble en condiciones de pH de 5,5-7,5 (Camacho *et al.*, 2008), representando sólo el 10 % del B en el suelo (Bariya *et al.*, 2014). La disponibilidad de B en los suelos en muchas regiones del mundo es limitada, por lo que es frecuente que se presenten síntomas de deficiencia en las plantas (Mengel *et al.*, 2001; Tanaka y Fujiwara, 2008).

En la planta, más del 98 % del B se encuentra en forma de H_3BO_3 libre, tanto en el citoplasma (pH 7,5), como en el apoplasto (pH 5,5); mientras que menos del 2% está en forma de borato (BO_3^{3-}) (Marschner, 2012). Anteriormente se consideraba que el B sólo se movilizaba en forma pasiva, considerándolo inmóvil en el floema (Blevins y Lukaszewsk, 1998); sin embargo, estudios recientes han demostrado que algunas plantas pueden removilizar eficientemente el B, debido a la alta producción de azúcares-alcoholes como manitol y sorbitol que contribuyen al transporte de B por el floema, formando complejos Polioles-B (Lehto *et al.*, 2010).

La principal función del B está relacionada con el papel estructural de la pared celular y ésta se debe a la capacidad del B para formar ésteres de borato articulado a cadenas de ramnagalacturonano II (RG II), siendo importante fisiológicamente para reticular la pectina

en la pared celular (Kobayashi *et al.*, 2011); además participa en numerosos procesos fisiológicos en las plantas como: desarrollo del tubo polínico (Dell y Huang, 1997; Agusti, 2013); transporte de azúcares, elongación celular, síntesis de ácidos nucleicos y respuestas hormonales (Taiz y Zeiger, 2006).

La caída prematura de flores y frutos en algunos cultivos se ha atribuido a la deficiencia de B, lo que sugiere que el movimiento de este elemento a estructuras reproductivas es restringido o que el desarrollo y crecimiento de estructuras florales tiene una mayor demanda comparada con estructuras vegetativas (Kastori *et al.*, 1995), y la sensibilidad a la deficiencia de B depende de la especie vegetal, siendo más sensibles aquellas que presentan inflorescencias y no flores axilares (Dell y Huang, 1997).

Teniendo en cuenta lo anterior, algunos órganos de la planta, en especial órganos florales y frutos, son sensibles frente a una deficiencia de este elemento (Kastori *et al.*, 1995; Botta *et al.*, 2007). No obstante, el aporte externo de B puede facilitar la retranslocación del mismo, y mejorar la disponibilidad para la planta en etapas donde es más demandante (Jin *et al.*, 2008). A nivel general, se considera que la adición de micronutrientes mejora la fertilidad de los cultivos y es esencial para la producción de los cultivos; sin embargo, la respuesta óptima de la fertilización depende de la forma de aplicación (edáfica o foliar), de la técnica de la aplicación, del cultivar, del estado fenológico de las plantas, de las condiciones agroclimáticas y de las características químicas del suelo (Dimkpa y Bindraban, 2016).

Se considera que la fertilización foliar es una herramienta complementaria a la fertilización edáfica, y se aplica cuando la disponibilidad de los nutrientes en el suelo es restringida debido a limitaciones edáficas ya sean físicas o químicas, o en las etapas fenológicas de alta demanda de nutrientes (Santos y Manjarrez, 2000): Por tanto, la fertilización foliar es una técnica ventajosa y eficiente frente a la fertilización edáfica, teniendo en cuenta que debe ser específica de acuerdo con el propósito y la limitación nutricional que se quiere resolver (Fageria *et al.*, 2009).

No obstante, el uso de la fertilización foliar ha sido controversial debido a vacíos y complejidad en la comprensión de la información acerca del mecanismo de absorción foliar

(Haytova, 2013), basándose en que el órgano especializado para la absorción de los nutrientes son las raíces; sin embargo, recientes estudios han demostrado que los procesos mediante los cuales las plantas utilizan una solución nutritiva foliar se enmarcan en mecanismos de permeabilidad cuticular y captación estomática (Fernández *et al.*, 2013). En este sentido, la aplicación foliar de microelementos de baja movilidad en la planta como el B en etapas de floración, cuajado y formación de fruto pueden contrapesar la pérdida de flores y frutos, además de activar la elongación de tallos, tubo polínico y frutos (Gómez, 2012).

En cuanto a Pasifloras, se ha determinado que el éxito de la etapa floral y reproductiva están en su mayor parte determinados por rasgos genéticos; sin embargo, se ve afectado por factores externos tales como: la región geográfica, la disponibilidad de agua y nutrientes y los polinizadores (Coca *et al.*, 2011). La pasiflora más estudiada en cuanto a nutrición mineral y su efecto sobre fotosíntesis, rendimiento y calidad poscosecha es el maracuyá (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). A través del tiempo se han desarrollado investigaciones donde se ha obtenido la extracción de macro y micro nutrientes en esta especie sirviendo como base para posteriores estudios de nutrición mineral (Carvalho *et al.*, 2011). Las recopilaciones de los estudios han demostrado que el micronutriente de mayor extracción por hectárea es el Zinc (216,9 kg) seguido por el boro (Menzel y Simson, 1988). Con respecto a los requerimientos de B en maracuyá, Haag *et al.* (1973) reportan que la planta extrae $296 \text{ g ha}^{-1} \text{ ciclo}^{-1}$ de B, de los cuales $37,8 \text{ g ha}^{-1}$ son extraídos por el fruto a los 370 días después de siembra. En Pasifloras se reporta que el nivel adecuado de B en el tejido foliar es de $25\text{-}100 \text{ mg kg}^{-1}$ de materia seca (Gómez, 2012); sin embargo, para plantas de maracuyá, las concentraciones ideales de B en la hoja se encuentran dentro del rango de $39\text{-}47 \text{ mg kg}^{-1}$ de materia seca (Sousa *et al.*, 2001).

En cuanto a fertilización foliar con B, en Pasifloras, se han reportado estudios del efecto de su aplicación sobre el crecimiento de esquejes de maracuyá (Prado *et al.*, 2006; Albuquerque *et al.*, 2010, Sousa *et al.*, 2011) y sobre variables vegetativas y productivas (Añez y España, 2011). Otras investigaciones en maracuyá bajo deficiencia de B han encontrado una reducción del 30% en número de frutos por planta, 21% menos de peso

en frutos, 11% menos en firmeza de fruto y menor número de semillas por fruto (Freitas *et al.*, 2006). En otra pasiflora como la curuba (*Passiflora tripartita*), Lizarazo *et al.* (2013) reportan que la deficiencia de B influye en la partición de masa seca, genera disminución del número de hojas y área foliar, hojas más gruesas, clorosis en hojas jóvenes y defoliación temprana.

Con respecto al cultivo de gulupa en Colombia hasta el momento se cuenta con investigaciones relacionadas con ecofisiología (Flórez *et al.*, 2012; Pérez y Melgarejo, 2012; Pérez-Martínez y Melgarejo, 2015), calidad poscosecha del fruto (Pinzón *et al.*, 2007; Pérez y Melgarejo, 2012; Flórez *et al.*, 2012; Díaz *et al.*, 2012), propagación sexual (Velásquez *et al.*, 2012), y la aplicación foliar de Zn en la inducción de ramas productivas (Gil *et al.*, 2012). Sin embargo, existe un vacío en los reportes literarios que describan el efecto de la aplicación foliar de B sobre características fisiológicas y calidad de fruto. Por lo anterior, se hace necesaria la investigación del efecto de la aplicación foliar de B en el comportamiento fisiológico y calidad de frutos en plantas de gulupa, bajo condiciones de campo, con el fin de generar conocimiento científico y proporcionar algunas bases para el manejo agronómico del cultivo.

Capítulo I: Respuesta fisiológica y bioquímica de plantas de gulupa a la aplicación foliar de boro bajo condiciones de campo

1.1 Introducción

La gulupa (*Passiflora edulis* f. *edulis* Sims) es una fruta tropical considerada como exótica en Estados Unidos y Europa, siendo ampliamente apetecida por su componente nutricional y funcional (Legiscomex, 2013; FAO, 2006). En los últimos años la demanda de frutas exóticas por parte de los Países Bajos ha venido aumentando debido a la búsqueda de nuevos sabores dentro de este tipo de alimentos (Proexport, 2013).

Sin embargo, una de las dificultades que afecta el aprovechamiento del potencial de exportación de la gulupa está relacionada con problemas en la floración y fructificación (Gil *et al.*, 2012). En otros cultivos frutales se ha demostrado que la pérdida de flores y frutos durante el cuajamiento está directamente relacionada con el estado nutricional de la planta y en especial con el suministro de B, debido a que es un microelemento involucrado en el crecimiento y desarrollo de estructuras reproductivas en las plantas (Avilan *et al.*, 1992; Mengel *et al.*, 2001; Lahav y Whiley, 2002).

Adicionalmente, se considera que el B participa en procesos primarios fisiológicos que determinan el crecimiento vegetal tales como: el intercambio de gases, la fotosíntesis, la respiración y la transpiración (Wimmer y Eichert, 2013), procesos que influyen en la distribución de biomasa entre órganos y en el rendimiento de fruto. La deficiencia de macro y micro nutrientes, así como el desequilibrio en el balance de nutrientes produce efectos negativos tanto directos como indirectos; directos cuando el nutriente participa en procesos del metabolismo del carbono e indirectos cuando influye en el crecimiento y morfogénesis (Azcón-Bieto y Talón, 2008).

A nivel general, se considera que los procesos de intercambio gaseoso están influidos por factores ambientales tales como luz, temperatura, concentración de CO₂ y O₂, humedad, disponibilidad de agua en el suelo y así mismo también pueden influir factores externos

como la nutrición mineral (Marschner, 2012). De los parámetros de intercambio gaseoso más sensibles ante un desequilibrio nutricional es la tasa de asimilación neta de CO₂ o fotosíntesis neta (A_N) y la conductancia estomática (g_s), siendo la A_N el parámetro de intercambio gaseoso más determinante sobre la producción de cultivos (Taiz y Zeiger, 2006). Las mediciones de intercambio gaseoso en los ensayos de nutrición mineral permiten comprender los mecanismos de las plantas frente a un entorno de limitación o exceso de un nutriente.

En cuanto al B, Goldbach y Wimmer, (2007) indican que el mecanismo del B en la fotosíntesis no está aún bien definido, y por lo tanto los efectos de la deficiencia o toxicidad en la fotosíntesis son considerados complejos y de naturaleza secundaria. En general, la deficiencia y toxicidad de B disminuyen la A_N en especies como algodón (Bogiani *et al.*, 2013), cucurbitáceas (Landi *et al.*, 2013a), albahaca, (Landi *et al.*, 2013b), té (Mukhopadhyay *et al.*, 2013; Hajiboland *et al.*, 2013), cítricos (Han *et al.*, 2008; Sheng *et al.*, 2010), coco (Pinho *et al.*, 2010), kiwi (Sotiropoulos *et al.*, 2002), entre otros. En este sentido, algunos autores indican que los efectos del B en la fotosíntesis no se presentan de manera directa, sino que son el resultado de una serie de alteraciones en otros procesos bioquímicos y fisiológicos (Marschner, 2012).

En condiciones de deficiencia, se ha reportado la acumulación de almidón y bajo condición de toxicidad menor actividad de enzimas fotosintéticas, así como la alteración en la capacidad de transporte de electrones (Landi *et al.*, 2013a). Sin embargo, el mecanismo por el cual la deficiencia o toxicidad por B afecta la fotosíntesis no se ha dilucidado completamente (Chen *et al.*, 2014). Sheng *et al.* (2009) y Bogiani *et al.* (2013) afirman que la disminución de la fotosíntesis se debe a limitaciones estomáticas y no estomáticas de la fotosíntesis.

Al igual que los parámetros de intercambio gaseoso, la fluorescencia de la clorofila ha sido ampliamente usada en estudios de nutrición vegetal. La fluorescencia de la clorofila genera una aproximación del desempeño y del estado del aparato fotosintético a nivel del PSII (Moreno *et al.*, 2016) y permite monitorear y relacionar la eficiencia fotoquímica y la disipación térmica de la energía absorbida con cambios en la fotosíntesis y el desarrollo vegetal (Maxwell y Johnson, 2000 y Baker, 2008). Adicionalmente, las mediciones de fluorescencia de la clorofila son una herramienta rápida y útil que permite analizar las

reacciones fotosintéticas dependientes de la luz en respuesta a una condición de estrés dada (Kalaji *et al.*, 2016).

En investigaciones de nutrición mineral con B, se ha determinado que la eficiencia máxima del PSII (Fv/Fm) tiende a disminuir con exceso de B (Han *et al.*, 2009; Landi *et al.*, 2013a). Por otro lado, Han *et al.* (2009) reportan que este parámetro disminuye aún más en hojas deficientes que con exceso de boro, asegurando que el PSII es menos inhibido con exceso; concordando con Papadakis *et al.* (2004), quienes afirman que este parámetro no se ve afectado con dosis altas de B. Sin embargo, debe considerarse que bajo condiciones de estrés por B el Fv/Fm, puede verse afectado dependiendo de la especie.

Hasta la fecha no se han reportado estudios que indaguen sobre la respuesta fisiológica de plantas de gulupa a aplicaciones foliares con B, los estudios más próximos se han realizado en otras especies de pasifloras frutales como maracuyá (Prado *et al.*, 2006; Albuquerque *et al.*, 2010, Sousa *et al.*, 2011) y en otras especies trepadoras como kiwi (Sotiropoulos *et al.*, 2002) y cucurbitáceas (Landi *et al.*, 2013a).

Teniendo en cuenta la importancia económica del cultivo y el vacío en la información acerca del efecto de la fertilización foliar con B, el trabajo presentado en este capítulo tuvo como objetivo evaluar el efecto de la aplicación foliar de diferentes concentraciones de B sobre el intercambio gaseoso, fluorescencia de la clorofila en plantas de gulupa crecidas bajo condiciones de campo.

1.2 Materiales y métodos

1.2.1 Material vegetal y condiciones de crecimiento

El cultivo de gulupa se estableció en el municipio de Pasca (Cundinamarca), en la vereda San Pablo en la finca Bellavista, ubicada a 4°18'45,52'' N - 74°19'58,13'' W a una altitud de 2.006 msnm. Se sembraron 108 plántulas de gulupa (*Passiflora edulis* f. *edulis* Sims) de aproximadamente 20 cm de altura, obtenidas en un vivero comercial de Sutamarchán, Boyacá, a una distancia de 3,5 m entre surcos y 3,5 m entre plantas, en un área de 1.323 m², con densidad de siembra de 816 plantas/ha. Se empleó un sistema de tutorado de

espaldera a doble alambre, uno ubicado a 1,5 m y el otro a 2 m del nivel del suelo, este sistema facilita la aireación, luminosidad y la aplicación de productos foliares (Jiménez *et al.*, 2012). Al momento de la siembra las plantas fueron tratadas con oxiclورو de cobre al 58% con el fin de prevenir la incidencia de enfermedades fungosas.

El suelo presentó pH de 4,5, por lo que fue necesario 15 días antes de la siembra al momento del ahoyado aplicar 100 g de cal dolomita con el objetivo de ajustar el pH debido a las condiciones de acidez. El suelo se caracterizó por tener una textura arcillosa, de bajo a medio contenido de N, P y Mg; un contenido óptimo de K, Ca y S; y bajo contenido de micronutrientes, siendo el contenido de B en el suelo de 0,14 mg kg⁻¹(Anexo A2). El plan de fertilización se realizó teniendo en cuenta el análisis de suelos y lo reportado por Jiménez *et al.* (2012), debido a la escasa información de requerimientos nutricionales para gulupa. La fertilización fue fraccionada y se realizaron 5 fracciones para el primer ciclo productivo, la primera al momento de la siembra, dos durante el desarrollo vegetativo y dos durante floración y producción; en el segundo ciclo productivo se realizaron dos fertilizaciones, la primera una semana después de realizar la poda de las ramas donde se cosecharon los frutos del primer ciclo, y la segunda posterior al cuajado del fruto. La frecuencia de la fertilización se realizó en promedio de 2 a 2,5 meses. En el anexo A3 se detalla el plan de fertilización para cada ciclo productivo.

En cuanto al aporte hídrico durante el establecimiento de las plántulas fue necesario regar semanalmente durante los tres primeros meses. El insecto plaga más limitante fueron los thrips en etapa de floración y fructificación, por lo que fue necesario realizar aplicaciones quincenales de productos con ingrediente activo Spinosad. La enfermedad más limitante fue causada por *Fusarium* sp. tanto en etapa vegetativa como productiva, para el manejo de la enfermedad se realizaron aplicaciones edáficas de cal dolomita, y productos a base de azufre y yodo agrícola. En cuanto al manejo de arvenses, se realizó desyerbe en el plato de la planta con el uso de azadón y cada dos meses se realizó corte de malezas con guadaña. Para el manejo de enfermedades se realizaron podas fitosanitarias en conjunto con la erradicación de plantas afectadas principalmente por *Fusarium* sp. En el Anexo B se detallan los productos empleados para el manejo fitosanitario de los cultivos.

Para dar arquitectura a la planta se realizaron podas de formación teniendo en cuenta el sistema de tutorado establecido, se seleccionó una rama principal la cual fue podada al

momento que alcanzó el alambre más alto (2,0 m); posteriormente se guiaron dos ramas a cada lado y se dejó crecer hasta que alcanzara una longitud de aprox. 1,75 m, al momento de alcanzar esta longitud se realizó un despunte para estimular la formación de ramas secundarias o ramas productivas donde estaban ubicados los botones y flores que darían origen a la producción de frutos. Para el segundo ciclo productivo, posterior a la cosecha de frutos de cada rama productiva, se realizó la poda sobre cada rama dejando dos yemas.

1.2.2 Variables climáticas

En la zona de estudio se instaló una estación meteorológica (Coltein Ltda., Bogotá, Colombia) con dataloggers (Coltein Ltda., Bogotá y Hobo U12-006, Onset Computer Corporation, Bourne, Massachusetts, USA) para el registro de la humedad relativa, temperatura (sensores THR-102, USA), y radiación fotosintéticamente activa (PAR, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) con sensores LI 190 B, LI-COR Inc. Lincoln, Nebraska, USA). Los registros de los datos se realizaron cada 15 minutos. El déficit de presión de vapor (DPV) se calculó a partir de los datos de temperatura y humedad relativa registrados por la estación meteorológica, aplicando el método de Allen *et al.* (1998) usando las siguientes ecuaciones:

$$DPV = e_s - e_a \quad (\text{Ecuación 0-1})$$

$$e_a = \frac{e_s \cdot HR}{100} \quad (\text{Ecuación 0-2})$$

$$e_s = 0,6108 \exp\left(\frac{17,27T}{T+237,3}\right) \quad (\text{Ecuación 0-3})$$

Donde, *DPV*: déficit de Presión de Vapor (kPa); *e_s*: presión de vapor a saturación (kPa); *e_a*: presión de vapor real (kPa); *HR*: humedad relativa (%) y *T*: temperatura (°C).

En cuanto a la variable de precipitación no fue posible registrarla debido a que se presentó problemas técnicos con el pluviómetro de la estación. El resumen de los datos climáticos para cada ciclo productivo se muestra en el Anexo C1 y C2.

1.2.3 Tratamientos foliares con boro

Los tratamientos de aplicación foliar con B se realizaron con base en la extracción de este nutriente reportado por Haag *et al.* (1973) para *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* el cual está alrededor de 300 g ha⁻¹ ciclo⁻¹. Para este ensayo dicho valor de extracción se tomó como el 50% debido a que por el método de aplicación foliar se considera que solo el 50% de la solución aplicada es absorbida por la planta y depende también de la velocidad de absorción del elemento, la cual para algunos elementos de baja movilidad pueden tener una velocidad de absorción foliar entre 1 a 20 días (Meléndez y Molina, 2001), aunque se desconoce la velocidad de absorción del B. Los diferentes tratamientos foliares con B se observan en la tabla 1-1.

La aplicación de B se realizó vía foliar utilizando como fuente ácido bórico (H₃BO₃). Para la aspersión se usó un equipo de espalda Royal Condor ref. CO-004 ®, con una capacidad de 20 L, se usó una boquilla de tipo abanico sólido, con un caudal de aspersión de 600 cm³ min⁻¹, adicionalmente se usó como coadyuvante y corrector de pH de la solución Agrotin® (1,5 ml l⁻¹). Se realizó la calibración de la bomba para garantizar una aplicación homogénea. En cada aplicación del tratamiento se midió la descarga de agua por cada surco asperjado. Los tratamientos se distribuyeron en 4 aplicaciones, las cuales se realizaron con una frecuencia de 8 días, los tratamientos se iniciaron cuando la mayoría de las ramas terciaras presentaran emergencia de botones florales, con un tamaño de botón entre 0,5 cm de ancho y 1 cm de largo, con el objetivo de cubrir las etapas fenológicas de antesis, flor abierta y cuajado de fruto (Anexo A1), teniendo en cuenta que según la escala BBCH (Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt and Chemische Industrie) el cuajado del fruto (código 69) ocurre a los 30 días después de la aparición del botón floral para esta zona de estudio (datos no publicados).

Tabla 1-1. Tratamientos foliares con B para el cultivo de gulupa

Tratamiento	Aplicación (kg B ha ⁻¹)	ppm B	ppm H ₃ BO ₃
T0	0	0	0
T50	0,3	38	74
T100	0,6	76	149
T150	0,9	114	223

Las aplicaciones foliares se realizaron para dos ciclos productivos, para el primer ciclo productivo la aplicación se inició a los 178 días después de trasplante (ddt) momento en el cual inicia la emergencia de botones florales en ramas secundarias, y para el segundo ciclo se realizó a los 30 días después de la poda de producción (aprox 390 ddt). El segundo ciclo se retrasó con respecto a un cultivo comercial debido a que fue necesario realizar una poda fitosanitaria de las ramas secundarias a causa de daños por thrips. Las aplicaciones se realizaron en horas de la mañana entre las 7-8 am, con el fin de evitar altas temperaturas y humedad relativa.

1.2.4 Curvas de respuesta fotosintética a la luz ($A_N/PPFD$)

Se realizaron curvas de respuestas fotosintéticas a la luz ($A_N/PPFD$) en tres plantas por tratamiento en etapa reproductiva, tomando una hoja por planta en adecuada condición fitosanitaria, madura, totalmente expandida y que estuviese cerca de un botón floral. Las mediciones se realizaron por medio de un analizador de gas infrarrojo IRGA (ADC BioScientific Ltd. Hoddesdon, UK) con cámara de hoja ancha. En el rango de 8:00 y 13:00 se realizaron mediciones de la tasa fotosintética (A_N) a diferentes niveles de densidad de flujo fotónico (PPFD), partiendo de 1800 μmol de fotones $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ hasta 0 μmol de fotones $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$, el flujo de CO_2 se ajustó para mantener una concentración de 380 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ dentro de la cámara;x A partir de esta curva se determinó el punto de saturación de saturación lumínico (PSL) el cual fue usado para las posteriores mediciones de intercambio gaseoso para todos los tratamientos. Los datos de las curvas de luz se ajustaron al modelo hiperbólico de Michaelis Menten por medio de una regresión no lineal, correspondiente a la ecuación 1-4, siguiendo la metodología de Martínez-Pérez y Melgarejo (2015).

$$A_N = \frac{A_{N_{\text{máx}}} * PPFD}{K + PPFD} - R_D \quad (\text{Ecuación 0-4})$$

Donde, A_N es la tasa de fotosíntesis, $A_{N_{\text{máx}}}$ es la tasa de fotosíntesis máxima a una PPFD saturante, PPFD es la densidad de flujo fotónico fotosintético, K es la constante de saturación por luz (definida como la mitad de la PPFD saturante) y R_D es la respiración en

oscuridad. De la ecuación 1-4 igualada a cero se derivó el punto de compensación lumínico (PCL). El punto de saturación lumínico (PSL) se calculó multiplicando por dos el valor de K , y la eficiencia fotosintética (ϕ) se estimó como la pendiente de la regresión lineal obtenida con los valores de A_N a valores de PPFD inferiores a $200 \mu\text{mol de fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Solarte *et al.*, 2010). Se seleccionó la curva que presentara el mejor R^2 .

1.2.4 Intercambio gaseoso, fluorescencia de la clorofila y contenido de clorofilas

Un día después de finalizar la cuarta aplicación de boro para cada tratamiento, por medio de un analizador de gas infrarrojo IRGA (ADC BioScientific Ltd. Hoddesdon, UK) acoplado a una cámara de hoja ancha se realizaron mediciones de tasa fotosintética (A_N), transpiración (E), conductancia estomática (g_s), carbono interno (C_i) y carbono atmosférico (C_a), usando $272 \mu\text{mol de fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ como PPFD equivalente al PSL obtenido a partir de la curva A_N/PPFD ; el flujo de CO_2 se ajustó a una concentración de $380 \mu\text{mol mol}^{-1}$ dentro de la cámara. Las mediciones se realizaron entre el rango de las 8:00 y 13:00, tomando ocho plantas por tratamiento, tres hojas fuente en adecuadas condiciones fitosanitarias, maduras y completamente expandidas, y se registraron tres mediciones de cada hoja. Con los datos de intercambio gaseoso obtenidos se calculó la relación carbono interno /carbono atmosférico (C_i/C_a), el uso eficiente del agua extrínseco (WUE_e) como la relación entre A_N y E y el uso eficiente del agua intrínseco (WUE_i) como la relación entre A_N y g_s (Solarte *et al.*, 2010)

A su vez, en las plantas usadas para la medición de intercambio gaseoso se realizaron mediciones de la eficiencia de operación del fotosistema II (ϕ_{PSII}) empleando un fluorómetro modulado (Hansatech FMS2, Norfolk, UK). Ocho plantas por tratamiento, tres hojas por planta, tres mediciones en cada hoja. Para la medición de la eficiencia fotoquímica máxima potencial del fotosistema II (F_v/F_m) se tomaron datos en horas de pre-alba (3:00-4:00 am), se realizaron en cuatro plantas por tratamiento, tres hojas por planta, manteniendo adaptación de las hojas a condiciones de oscuridad por 30 min y luego se realizó la respectiva medición.

1.2.5 Contenido de clorofilas a, b, total y carotenoides en hojas

En campo se colectaron cinco hojas por planta cercanas a un botón floral, seleccionando cuatro plantas por tratamiento y se dispusieron en neveras de icopor, el material fue transportado inmediatamente al Laboratorio de Fisiología y Bioquímica Vegetal del Departamento de Biología de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá. El material vegetal fue macerado con nitrógeno líquido con un mortero en cama de hielo hasta obtener polvo fino. Para cada muestra se pesó 0,05 g y se dispuso en tubo falcon de 15 ml adaptado a oscuridad, posteriormente se adicionó 1,5 mL de acetona 80% v/v previamente enfriada a -10°C, se homogenizó con vortex durante 2 minutos y posteriormente se centrifugó durante 15 minutos a 10.000 rpm a 4°C (Lichtenthaler, 1997). El sobrenadante fue retirado y se dispuso en tubos falcon adaptados a oscuridad a una temperatura de 4°C, este proceso fue realizado una vez más con el fin de obtener lavados sin coloración verde. El sobrenadante fue recuperado y aforado con acetona 80% v/v previamente enfriada a -10°C a 10 ml. Con el uso de un espectrofotómetro se realizó la lectura a absorbancia con longitud de onda de 663, 647 y 470 nm para determinación de clorofila a (Chl a), clorofila b (Chl b) y carotenoides respectivamente, las lecturas se realizaron por triplicado. El cálculo del contenido de cada pigmento expresado en mg L⁻¹ se realizó teniendo en cuenta las siguientes ecuaciones:

$$Chl\ a = (12,25 \times A_{663nm}) - (2,79 \times A_{647nm}) \quad (\text{Ecuación 0-5})$$

$$Chl\ b = (21,5 \times A_{647nm}) - (5,1 \times A_{663nm}) \quad (\text{Ecuación 0-6})$$

$$Clorofila\ total = (7,15 \times A_{663nm}) - (18,7 \times A_{647nm}) \quad (\text{Ecuación 0-7})$$

$$Carotenoides = \frac{(1000 \times A_{470nm}) - (1,82 \times Chl\ a) - (82,05 \times Chl\ b)}{198} \quad (\text{Ecuación 0-8})$$

Para expresar el contenido de los pigmentos en mg g⁻¹ se multiplicó por el volumen al cual se aforó expresado en litros y se dividió por la masa de las muestras del material vegetal utilizado.

1.2.6 Contenido de azúcares totales y reductores en hojas

La determinación de azúcares totales se realizó con agua destilada y la cuantificación se basó en el método de Dubois *et al.* (1965), para esto se tomaron la cantidad de muestras y se siguió el mismo proceso de recolección, transporte y maceración usado para la determinación de pigmentos. Previamente se realizó la curva de calibración usando como patrón D-glucosa (Anexo D1). Del material macerado se pesó alrededor de 0,05 g, después de ser pesado se dispuso en tubos falcon de 15 mL se le agregó 5 mL de agua destilada y se dispusieron de forma horizontal en agitador orbital por 60 minutos para facilitar la extracción, posteriormente se centrifugó a 6000 rpm a 12°C. En tubos eppendorf de 2 mL se adicionó 180 µL de agua destilada y 30 µL de extracto, luego, en cámara de extracción se adicionó a cada tubo 200 µL de fenol al 5%, posteriormente se agregó 1 mL de ácido sulfúrico >98% y se agitó en vortex. La lectura se realizó con un espectrofotómetro y se leyó a una absorbancia de 490 nm. Se realizó triplicado de cada lectura.

La determinación de azúcares reductores se realizó según el método de Nelson (1944) y Somogyi, (1952), se tomaron la cantidad de muestras y se siguió el mismo proceso de recolección, transporte y maceración usado para la determinación de pigmentos. Previamente se realizó la curva de calibración usando como patrón D-glucosa y buffer de acetato de sodio 50 mM pH 5,0 (Anexo D2). Al material macerado y pesado (0,05 g) dispuesto en tubos falcon de 15 mL se le agregó 4 mL de buffer de acetato de sodio a temperatura ambiente en agitador orbital por 60 minutos; luego se centrifugaron a 6000 rpm por 30 min a 12°C. En eppendorf de 2 mL se adicionó 240 µL de Buffer, 30 µL de extracto, 250 µL de reactivo Somogyi I y 50µL de Somogyi II y se dispuso en vórtex durante 20 segundos. Los tubos eppendorf se calentaron en agua a 90°C por 1 hora, se dejó enfriar y se agitó en vortex. Luego se agregó lentamente 500 µL de reactivo Nelson y se agitó fuertemente. En agitación constante se adicionó 500 µL de agua destilada y se dispuso en vórtex por 30 segundos para retirar el CO₂ excedente. Las lecturas se realizaron en un espectrofotómetro a una absorbancia de longitud de onda de 660 nm. Se realizó triplicado de cada lectura.

1.2.7 Contenido de boro foliar

Se tomaron 4 hojas por planta cercanas a un órgano vertedero, 4 plantas por tratamiento, para un total de 16 hojas por tratamiento. Se transportaron en frío hasta el laboratorio de fisiología vegetal del departamento de biología de la Universidad Nacional de Colombia, posteriormente se lavaron con una solución de HCl (diluyendo 10 mL de HCl al 37% en 1 L de agua) y se realizó dos enjuagues con agua destilada. Después del lavado se dispusieron inmediatamente en un horno de secado a 70°C por 48 horas. Posteriormente, se maceraron en un mortero, y se tamizaron por tamiz de 1 mm, obteniendo 5-10 g de tejido vegetal seco y tamizado. Por último, las muestras procesadas, se llevaron al laboratorio de la universidad ECCI para ser analizados por medio de espectrofotometría de absorción atómica (EAA), el contenido de B foliar se expresó en mg kg⁻¹ de masa seca (MS).

1.2.8 Análisis estadístico

Se estableció un diseño completamente aleatorio (DCA) con 4 tratamientos y 4 repeticiones. Para todas las variables se validaron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas de acuerdo con las pruebas estadísticas de Kolmogorov-Smirnov (Normalidad) y Levene (Homogeneidad de varianzas). Para el análisis de los datos se utilizó el diseño completamente aleatorio con submuestreo, 4 tratamientos (0, 50, 100 y 150), 4 repeticiones y 3 submuestras. La curva de luz ($A_N/PPFD$) se ajustó con el software estadístico SPSS v.20.0 (IBM Corp. 2011) de acuerdo al modelo de Michaleis Menten (ecuación 1-4). Se validaron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas de acuerdo a las pruebas estadísticas de Kolmogorov-Smirnov (Normalidad: $N > 50$) y Levene (Homogeneidad de varianzas). Para el análisis de las variables que no cumplieron los anteriores supuestos, se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis ($P \leq 0.05$); mientras que para las demás variables, se realizaron análisis de varianza (ANOVA) de una vía y pruebas de comparación de medias de Tukey ($P \leq 0.05$) para determinar diferencias entre tratamientos; además para determinar diferencias entre los ciclos de cultivo se utilizó la prueba de *T-Student* ($P \leq 0.05$). Todo lo anterior se realizó con el software SAS 9,2 (Cary, NC: SAS Institute Inc., 2008). Las gráficas se realizaron con el software SigmaPlot versión 11.0 (SigmaPlot, 2008).

1.3 Resultados

1.3.1 Curvas A_N /PPFD

La respuesta fotosintética a los diferentes niveles de PPFD (Figura 1-1) muestran que las plantas con la aplicación del tratamiento T150 presentan mayor A_N comparado con las otras plantas bajo los restantes tratamientos; sin embargo, no se presentan diferencias estadísticas entre tratamientos ($P \geq 0,05$) evidenciando que la diferencia entre tratamientos es más acentuada en los valores más altos de PPFD (Fig. 1-1).

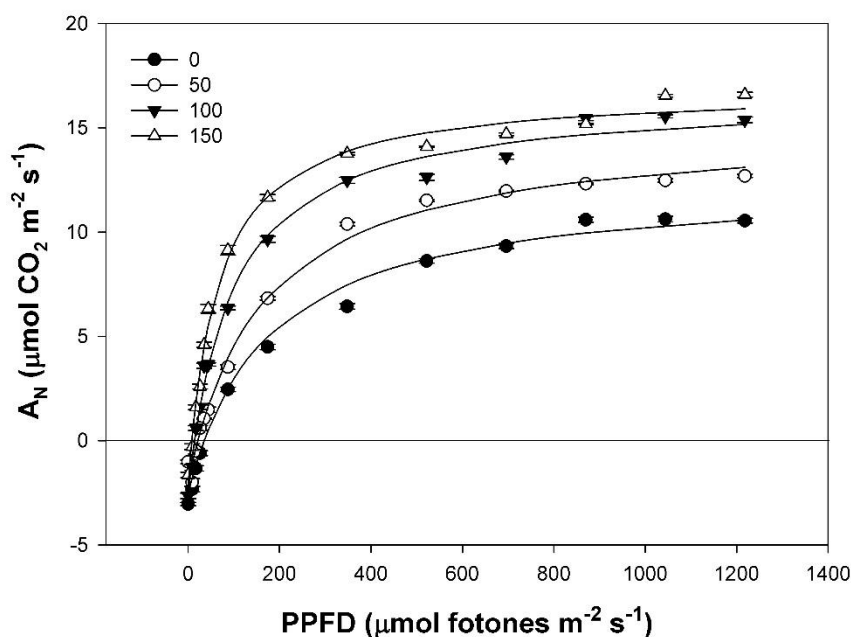


Fig. 1-1. Curvas de respuesta fotosintética a la luz (A_N /PPFD) en plantas de gulupa en etapa de producción bajo diferentes dosis de aplicación foliar con B. Las barras verticales indican el error estándar ($n=3$).

Se observa que a medida que la concentración de B en la aplicación foliar aumenta, así mismo se incrementa la A_N , presentando el T150 un aumento del 27,24% con respecto al T0; sin embargo, contrario a este comportamiento se observó que el PCL y PSL disminuyen con el incremento de la concentración de B, presentando el T150 un PCL de $5,92 \mu\text{mol fotones m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y un PSL de $112,28 \mu\text{mol fotones m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Para las variables RD y ϕ no es claro un patrón de comportamiento entre tratamientos, pero se resalta que el T100 presentó la mayor ϕ ($0,1902 \mu\text{mol CO}_2 \mu\text{mol fotones}^{-1}$) y una de las menores RD ($2,42 \mu\text{mol}$

$\text{CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), siendo T0 el que presentó el menor valor de RD ($2,13 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) (Tabla 1-2).

Tabla 1-2. Parámetros estimados a partir del ajuste de curva de respuesta fotosintética a la luz (A_N/PPFD) al modelo de Michaelis Menten, en plantas de gulupa en estado productivo crecidas en el municipio de Pasca, bajo diferentes dosis de aplicación foliar con B. Tasa fotosintética a saturación lumínica ($A_{N\text{max}}$), punto de compensación lumínico (P_{CL}), respiración en oscuridad (R_D), punto de saturación lumínico (PSL), eficiencia fotosintética (ϕ).

Tratamiento	R ²	$A_{N\text{max}}$ ($\mu\text{mol CO}_2$ $\text{m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	PCL (μmol fotones m^{-2} s^{-1})	RD (μmol CO_2 $\text{m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	PSL (μmol fotones $\text{m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	ϕ ($\mu\text{mol CO}_2$ μmol fotones ⁻¹)
T0	0.98	14,94±0,11	27.89	2,13±0,09	421,14±11,3	0,1017±0,0005
T50	0.99	17,39±0,19	20.83	3,05±0,10	272,34±13,4	0,068±0,0006
T100	0.98	18,91±0,15	10.13	2,42±0,08	195,90±21,6	0,1902±0,0019
T150	0.99	19,01±0,22	5.92	3,03±0,13	112,28±24,2	0,1514±0,0033

1.3.2 Intercambio gaseoso y fluorescencia de la clorofila

En el primer ciclo productivo se presentaron diferencias estadísticamente significativas para A_N y g_s ($P \leq 0,05$), se observó que la A_N y g_s aumentan gradualmente a medida que se incrementa la concentración de B en la solución de los tratamientos foliares, siendo el T150 el que presentó una mayor A_N ($7,93 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) y g_s ($0,71 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) (Fig. 1-2 A y 1-2C). La relación C_i/C_a no presentó diferencias estadísticamente significativas ($P \geq 0,05$) oscilando los valores para todos los tratamientos entre 0,77 y 0,79, resaltando que no se observa un patrón claro en función de las concentraciones foliares de los tratamientos (Fig. 1-2 G). La E presentó un incremento con la aplicación de B, aunque no se presenta un patrón claro, siendo el T100 el que mostró la mayor E ($4,61 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) y el T0 el menor valor ($3,44 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) (Fig. 1-2 E).

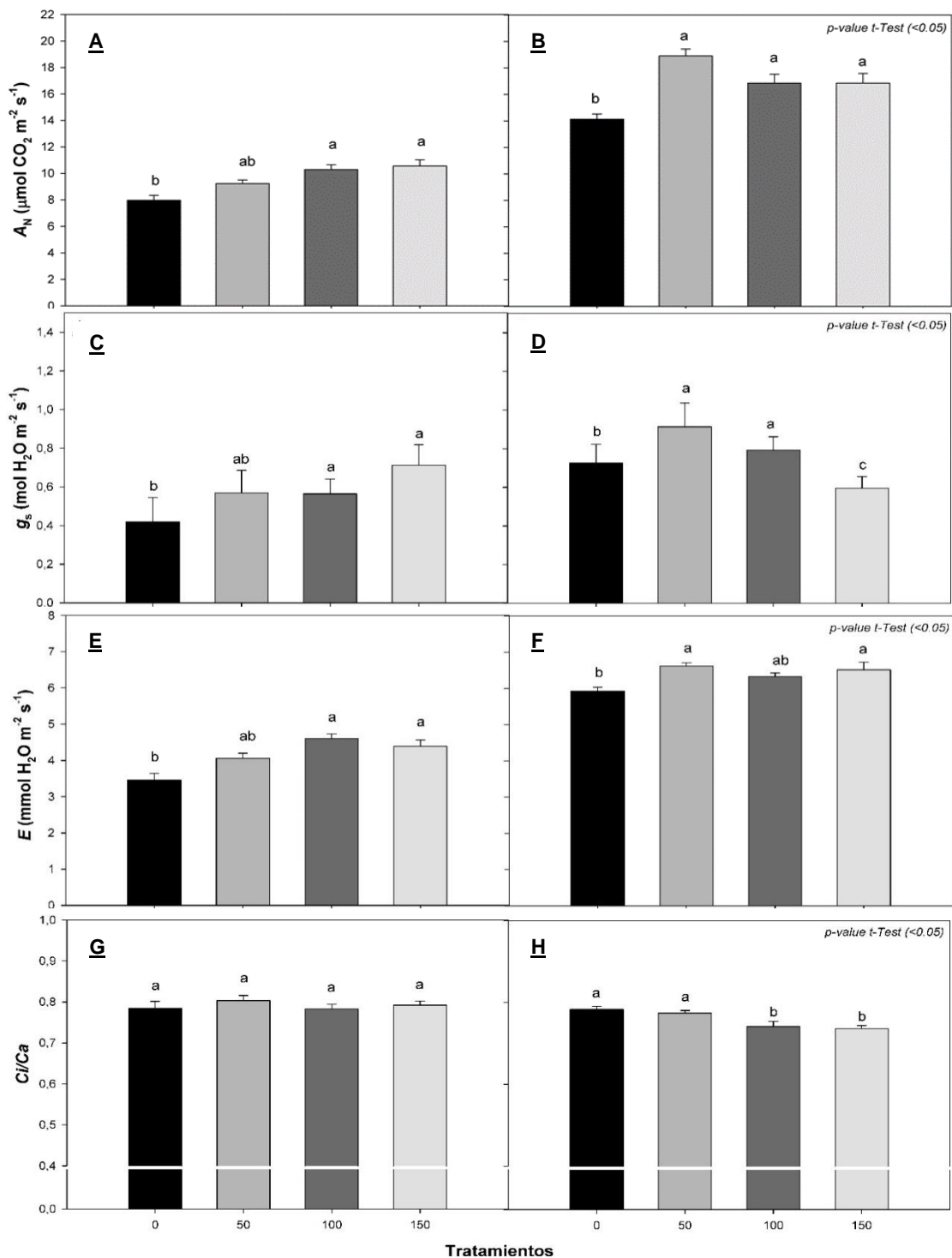


Fig. 1-2. Intercambio gaseoso en plantas de gulupa bajo diferentes dosis de aplicación foliar con B. Tasa fotosintética (A_N) en dos ciclos de crecimiento (primer ciclo **A** y segundo ciclo **B**), Conductancia estomática (g_s) en dos ciclos de crecimiento (primer ciclo **C** y segundo ciclo **D**), Transpiración (E) en dos ciclos de crecimiento (primer ciclo **E** y segundo ciclo **F**), Relación carbono interno / carbono atmosférico (C_i/C_a) en dos ciclos de crecimiento (primer ciclo **G** y segundo ciclo **H**). Letras diferentes indican

diferencias significativas ($\alpha=0,05$) entre dosis de B de acuerdo a la prueba no paramétrica *Kruskal-Wallis* para g_s y paramétricas *Tukey* para las restantes variables; p -valor de la prueba de *t* de *student* $\leq 0,05$ indica diferencias entre los dos ciclos de producción. Las barras verticales corresponden al error estándar.

El comportamiento del WUE_i (Figura 1-3 C) fue decreciente a medida que la concentración de B en la solución foliar aumenta, lo cual está relacionado con lo observado para la g_s , aunque no se presentan diferencias significativas entre tratamientos ($P > 0,05$), el valor mayor se evidenció para el T0 (35,19 $\mu\text{mol CO}_2/\text{mol H}_2\text{O}$) y el menor para el T150 (25,57 $\mu\text{mol CO}_2/\text{mol H}_2\text{O}$) (Fig. 1-3 C). El WUE_e (Fig. 1-3 A) no mostró un patrón claro en función de los tratamientos foliares, siendo el T100 el que presentó el menor valor (2,26 $\mu\text{mol CO}_2/\text{mmol H}_2\text{O}$) y el mayor valor fue para el T0 (2,41 $\mu\text{mol CO}_2/\text{mmol H}_2\text{O}$)

En el segundo ciclo productivo se observó mayores valores de A_N (Fig. 1-2 B) comparados con el primer ciclo, y a diferencia del primer ciclo no se presenta una tendencia de aumento de este parámetro en función de la concentración de B en la solución foliar. La mayor A_N se presentó para el T50 (19,91 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) y el menor valor se observó para el T0 (14,13 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Dentro de los resultados observados para A_N se resalta que el T100 y T150 presentan el mismo valor (16,85 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)

La g_s (Fig. 1-2 D) presentó diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ($P \leq 0,05$), se resalta que no se presentó una tendencia de aumento en función de la concentración de B en la solución foliar, así como sucedió para el primer ciclo productivo; sin embargo, al igual que para la A_N en el segundo ciclo el T50 mostró la mayor g_s (0,91 $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), y el menor valor fue para el T150 (0,60 $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). En el segundo ciclo la E (Fig. 1-2 F) no presentó un patrón claro frente a los tratamientos foliares, obteniendo los mayores valores el T50 (6,62 $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) y el menor valor el T0 (5,93 $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$).

La relación C_i/C_a en el segundo ciclo (Fig. 1-2 H) presentó diferencias estadísticamente significativas ($P \leq 0,05$) para los tratamientos T100 y T150 frente al T0, siendo estos dos tratamientos los que presentaron los menores valores (0,74). Se resalta que a diferencia de las anteriores variables mencionadas la C_i/C_a no presenta un incremento marcado entre ciclos productivos (Fig 1-2). El WUE_i (Fig. 1-3 D) no presentó diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos T0, T50 y T100 ($P \leq 0,05$), así mismo no se observó

una tendencia clara en los tratamientos como lo sucedió para la variable g_s , y debido a que WUE_i está en función de la g_s el T150 presentó el mayor WUE_i ($34,39 \mu\text{mol CO}_2/\text{mol H}_2\text{O}$) y el T50 presentó el menor valor ($22,04 \mu\text{mol CO}_2/\text{mol H}_2\text{O}$). Para el WUE_e en el segundo ciclo (Fig 1-3 B) no se presentó un comportamiento claro con respecto a la adición de B en la solución foliar, para este parámetro se observó diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ($P \leq 0,05$), presentando el T50 el mayor valor ($2,89 \mu\text{mol CO}_2/\text{mmol H}_2\text{O}$) y el menor valor el T0 ($2,38 \mu\text{mol CO}_2/\text{mmol H}_2\text{O}$) (Fig. 1-3 B), este parámetro presentó diferencias significativas entre ciclos productivos ($P \leq 0,05$).

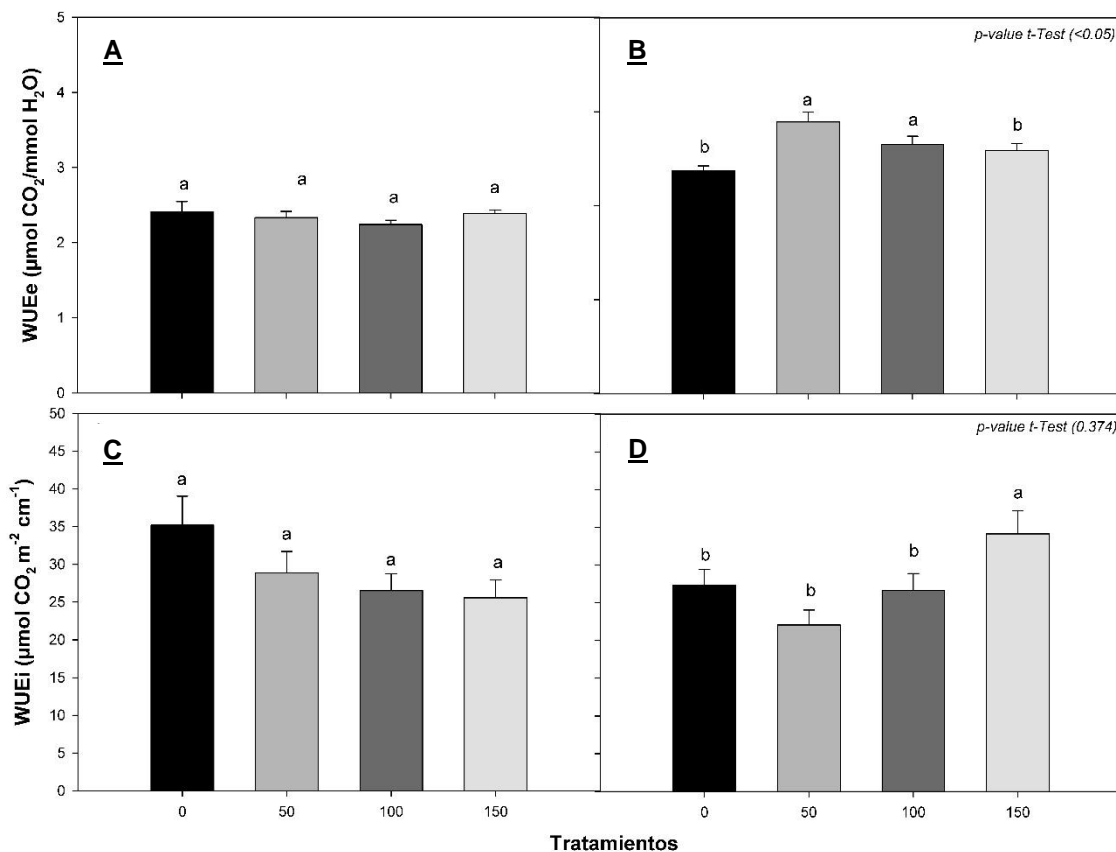


Fig. 1-3. Uso eficiente del agua en plantas de gulupa bajo diferentes dosis de aplicación foliar con B. Uso eficiente del agua extrínseco (WUE_e) (primer ciclo **A** y segundo ciclo **B**), Uso del agua intrínseco (primer ciclo **C** y segundo ciclo **D**). Letras diferentes indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$) entre dosis de B de acuerdo con la prueba paramétrica *Tukey*; *p*-valor de la prueba de *t* de *student* $\leq 0,05$ indica diferencias entre los dos ciclos de producción. Las barras verticales corresponden al error estándar.

En cuanto a los resultados obtenidos para la fluorescencia de la clorofila se resalta que para F_v/F_m (Fig 1-4) no se evidenció diferencias estadísticamente significativas entre los ciclos productivos ($P > 0,05$). Individualmente, en el primer ciclo productivo se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ($P \leq 0,05$), aunque los valores obtenidos para los tratamientos son superiores a 0,800. Se resalta que para el primer ciclo no existe una tendencia clara frente a la concentración de B en la aplicación foliar, siendo los valores más altos para T50 y T100 (0,892 y 0,870, respectivamente) (Fig. 1-4A). Por el contrario, en el segundo ciclo se presenta un leve aumento de F_v/F_m a medida que la concentración de B en la solución foliar aumenta, aunque sin diferencias significativas, presentando el T0 un valor de 0,887 y el T150 de 0,894 (Fig. 1-4B). Aunque estadísticamente no se presentó una diferencia entre ciclos productivos se observa un leve incremento de F_v/F_m en el segundo ciclo en plantas bajo tratamientos T0, T100 y T150.

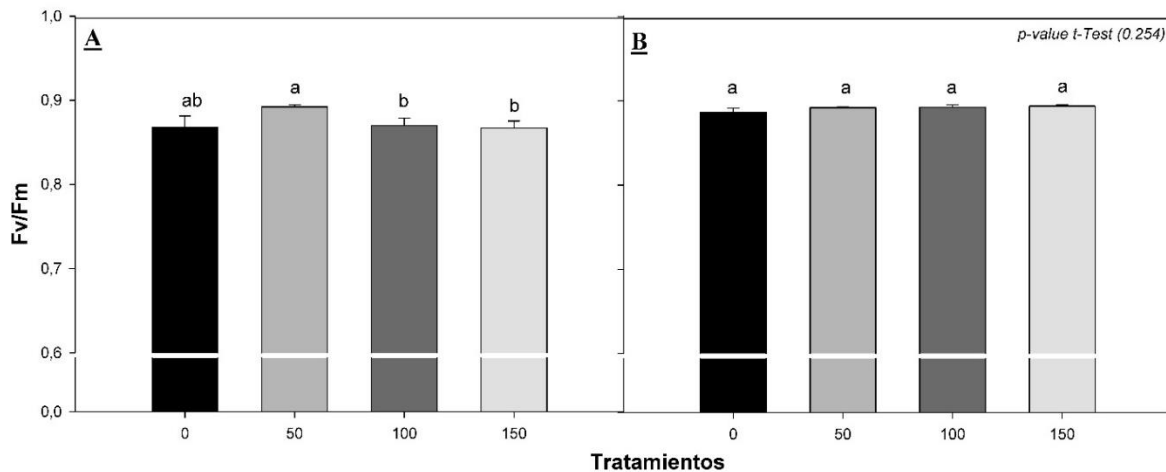


Fig. 1-4. Eficiencia máxima potencial de operación del fotosistema II (F_v/F_m) en plantas de gulupa bajo diferentes dosis de aplicación foliar con B (primer ciclo **A** y segundo ciclo **B**). Letras diferentes indican diferencias significativas ($\alpha=0,05$) entre dosis de B de acuerdo con la prueba no paramétrica *Kruskal-Wallis*; *p*-valor de la prueba de *t* de *student* $\leq 0,05$ indica diferencias entre los dos ciclos de producción. Las barras verticales corresponden al error estándar.

La Φ_{PSII} (Figura 1-5) presentó diferencias estadísticamente significativas entre ciclos productivos ($P \leq 0,05$), presentando los menores valores en el primer ciclo productivo, siendo el T0 el que presentó la menor eficiencia (0,44) y este valor aumenta en plantas

bajo la aplicación del T50 y T100 (0,48 y 0,58, respectivamente); sin embargo, para el T150 este valor disminuye a 0,47 (figura 1-5A). El mismo comportamiento se mantiene para el segundo ciclo productivo donde el T0 presentó una eficiencia de 0,57 y este incrementa a medida que se aumenta la concentración de B la solución foliar (Fig. 1-5B).

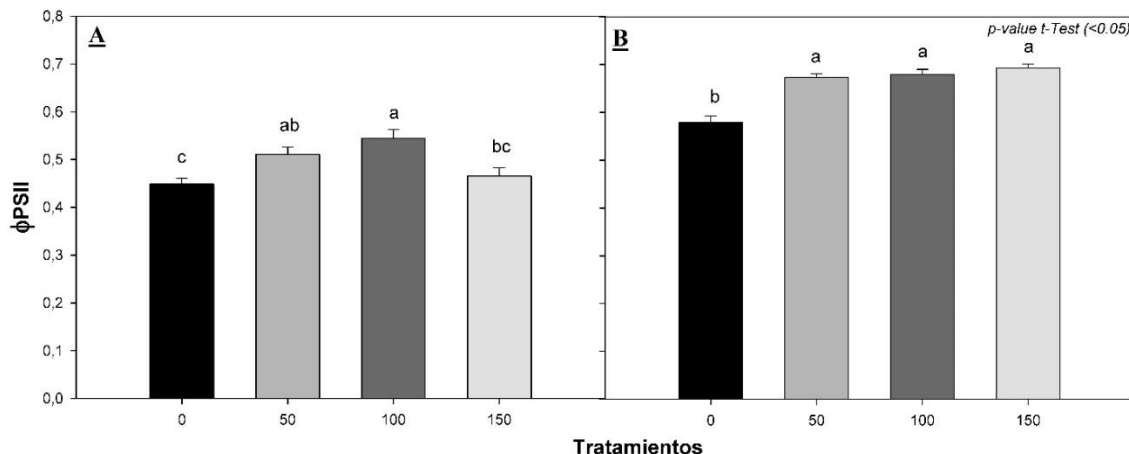


Fig. 1-5. Eficiencia real de operación del fotosistema II (ϕ_{PSII}) en plantas de gulupa bajo diferentes dosis de aplicación foliar con B.) (primer ciclo **A** y segundo ciclo **B**). Letras diferentes indican diferencias significativas ($\alpha=0,05$) entre dosis de B de acuerdo con la prueba paramétrica *Tukey*; *p*-valor de la prueba de *t* de *student* $\leq 0,05$ indica diferencias entre los dos ciclos de producción. Las barras verticales corresponden al error estándar.

1.3.3 Pigmentos, azúcares y concentración foliar de B en tejidos

Plantas de gulupa sometidas a diferentes concentraciones de B en la solución foliar mostraron para el primer ciclo productivo q el contenido de *CHL* total y el contenido de *CHLa* presentaron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ($P \leq 0,05$). El contenido de *CHL* total no mostró un patrón claro en función de la concentración de B en la aplicación foliar (Fig. 1-6 A); sin embargo, para la *CHLa* se observó un patrón claro en función de la concentración de B en la solución foliar, resaltando que el contenido de *CHLa* aumenta a medida que aumenta la concentración de B, las plantas sometidas a T0 presentaron un contenido de *CHLa* de $0,25 \text{ mg g}^{-1}$, seguido por T50 y T100 ($0,29 \text{ mg g}^{-1}$), por último el T150 ($0,37 \text{ mg g}^{-1}$) (Fig. 1-6 C). Resultados similares se obtuvieron para *CHLb* en donde el T0 también presentó el menor contenido de *CHLb* ($0,23 \text{ mg g}^{-1}$); sin embargo, con la aplicación de B no se observó un patrón claro en el contenido de *CHLb* (Fig. 1-6 E), siendo el T50 el que mostró el mayor contenido ($0,39 \text{ mg g}^{-1}$) y para el T100 el contenido

se disminuye a $0,32 \text{ mg g}^{-1}$ y se presenta un incremento con la aplicación de T150 ($0,38 \text{ mg g}^{-1}$) respecto a T0. Aunque el contenido de *CHLb* bajo los diferentes tratamientos foliares con B no presentó un patrón claro, se destaca que el incremento en la concentración de B aumenta el contenido de estos dos pigmentos con respecto a plantas sin aplicación foliar con B. El contenido de carotenoides (Figura 1-7A) mostró un comportamiento similar al contenido de clorofilas, mostrando diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ($P \leq 0,05$), en donde el T0 presentó el menor contenido ($0,49 \text{ mg g}^{-1}$) y este contenido incrementa con la aplicación de B, siendo el T150 el que mostró el mayor contenido ($0,75 \text{ mg g}^{-1}$), seguido por el T50, T100 y T0 ($0,69$, $0,61$ y $0,49 \text{ mg g}^{-1}$ respectivamente) (Fig.1-7 A). En general, para el contenido de *CHLa* el T150 presentó un incremento del 48% con respecto a T0, y para el *CHLb* el T50 incrementó este pigmento en un 69% frente a T0 (Figura 1-6).

En cuanto al segundo ciclo productivo el contenido de *CHL* total mostró diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ($P \leq 0,05$), y al igual que en el primer ciclo no se evidenció un patrón claro frente a la concentración de B en la solución foliar (Fig. 1-6B). El contenido de *CHLa* no mostró el mismo patrón presentado en el primer ciclo, se presentó diferencias estadísticamente significativas ($P \leq 0,05$) sin un patrón claro frente a la concentración de B en la solución foliar. En los tratamientos T50 y T150 el contenido de *CHLa* aumentó respecto a T0, las plantas bajo la aplicación de T50 mostraron el mayor contenido de *CHLa* ($0,37 \text{ mg g}^{-1}$) resaltando que este valor es igual al presentado en el tratamiento T150 para el primer ciclo, el cual fue el tratamiento que presentó un mayor contenido de este pigmento. Plantas bajo aplicación de T0 y T100 mostraron los menores contenidos de *CHLa* ($0,23 \text{ mg g}^{-1}$), este contenido es el menor presentado para los dos ciclos productivos (Fig. 1-6 D).

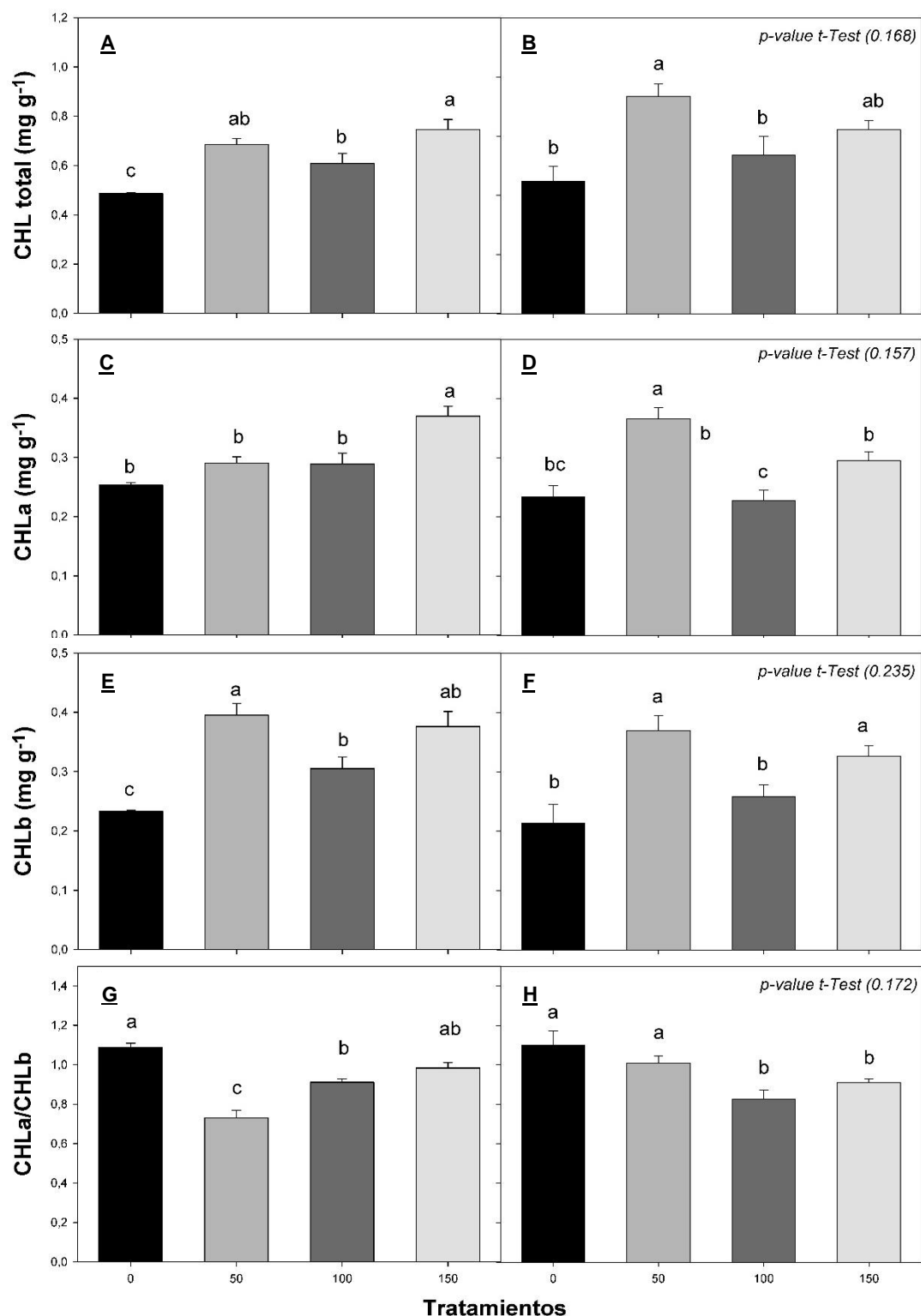


Fig. 1-6. Contenido de clorofilas en hojas de gulupa a diferentes dosis de aplicación foliar con B. Contenido de clorofilas totales (*CHL total*) (primer ciclo **A** y segundo ciclo **B**), Contenido de clorofila a (*CHLa*) (primer ciclo **C** y segundo ciclo **D**), Contenido de clorofila b (*CHLb*) (primer ciclo **E** y segundo ciclo **F**), relación de *CHLa/CHLb* (primer ciclo **G** y segundo ciclo **H**). Letras diferentes indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$) entre dosis de B de acuerdo con la prueba paramétrica *Tukey*; *p-valor* de la prueba de *t* de *student* $\leq 0,05$ indica diferencias entre los dos ciclos de producción. Las barras verticales corresponden al error estándar.

El contenido de *CHLb* es similar al descrito en el primer ciclo, no se presentó una tendencia al aumento cuando la concentración de B se incrementa en la solución foliar (Fig. 1-6 F), siendo el T50 el que mostró el mayor contenido de *CHLb* ($0,37 \text{ mg g}^{-1}$) se destaca que este mismo valor fue presentado para este tratamiento en el contenido *CHLa*, siendo entonces la relación de *CHLa/CHLb* igual a uno (Fig. 1-6 H); adicionalmente, el contenido de *CHLb* no presentó mayores cambios entre ciclos productivos para cada tratamiento. En general el T50 mostró un incremento del contenido de *CHLa* del 60,89% y en el contenido de *CHLb* mostró un incremento del 76,19% frente al T0. El contenido de carotenoides en plantas de gulupa bajo diferentes concentraciones de B en la solución foliar en el segundo ciclo productivo (Figura 1-7B) presentó diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ($P \leq 0,05$).

El contenido de azúcares para el primer ciclo productivo (Figura 1-8A) presentó diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ($P \leq 0,05$), resaltando que a diferencia de las anteriores variables evaluadas el contenido de azúcares totales disminuye gradualmente con las diferentes concentraciones de B en la aplicación foliar, este comportamiento se presentó para los dos ciclos productivos evaluados. En el primer ciclo el T0 presentó un contenido de azúcares totales de $61,24 \text{ } \mu\text{g mg}^{-1}$ y este es menor para el T150 ($34,32 \text{ } \mu\text{g mg}^{-1}$) correspondiente a una reducción del 78,43% (Fig. 1-8 A). Para el segundo ciclo productivo no se presentaron diferencias estadísticamente significativas ($P \geq 0,05$), presentando la misma tendencia del primer ciclo, en donde el T0 mostró el mayor contenido de azúcares ($50,05 \text{ } \mu\text{g mg}^{-1}$) y el T150 el menor valor ($34,39 \text{ } \mu\text{g mg}^{-1}$) (Fig. 1-8 B).

En cuanto al contenido de azúcares reductores en el primer ciclo productivo (Figura 1-9A) presentaron diferencias estadísticamente significativas ($P \leq 0,05$), encontrando que el T0 y T150 presentaron los valores más altos ($13,54$ y $15,43 \text{ } \mu\text{g mg}^{-1}$) y el T50 y T100 mostraron valores similares ($11,32$ y $11,36 \text{ } \mu\text{g mg}^{-1}$). En el segundo ciclo también se presentaron diferencias estadísticas entre tratamientos, y al igual que para el primer ciclo el T0 y T150 mostraron los valores más altos ($14,22$ y $15,76 \text{ } \mu\text{g mg}^{-1}$).

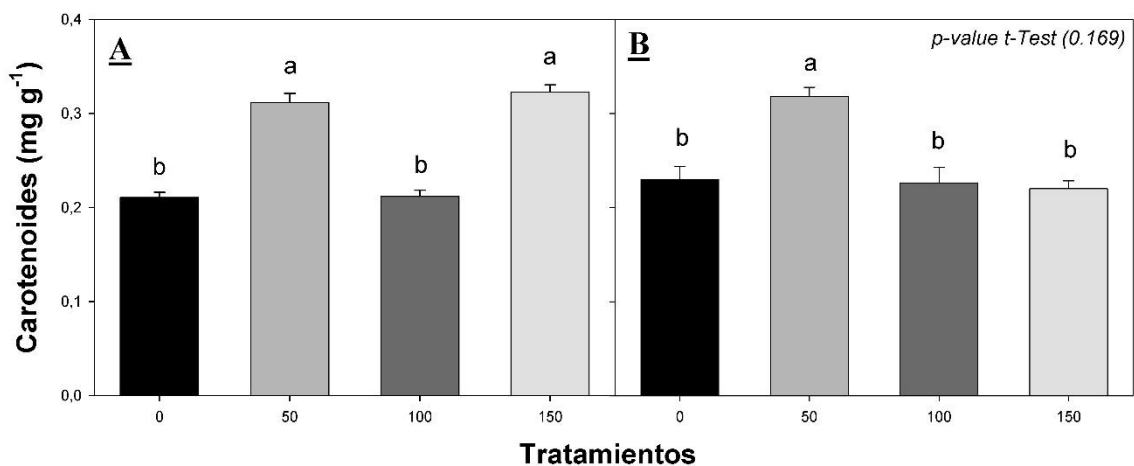


Fig. 1-7. Contenido de carotenoides en hojas de gulupa a diferentes dosis de aplicación foliar con B. primer ciclo **A** y segundo ciclo **B**. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre dosis de B de acuerdo con la prueba paramétrica *Tukey*; *p*-valor de la prueba de *t* de *student* $\leq 0,05$ indica diferencias entre los dos ciclos de producción. Las barras verticales corresponden al error estándar.

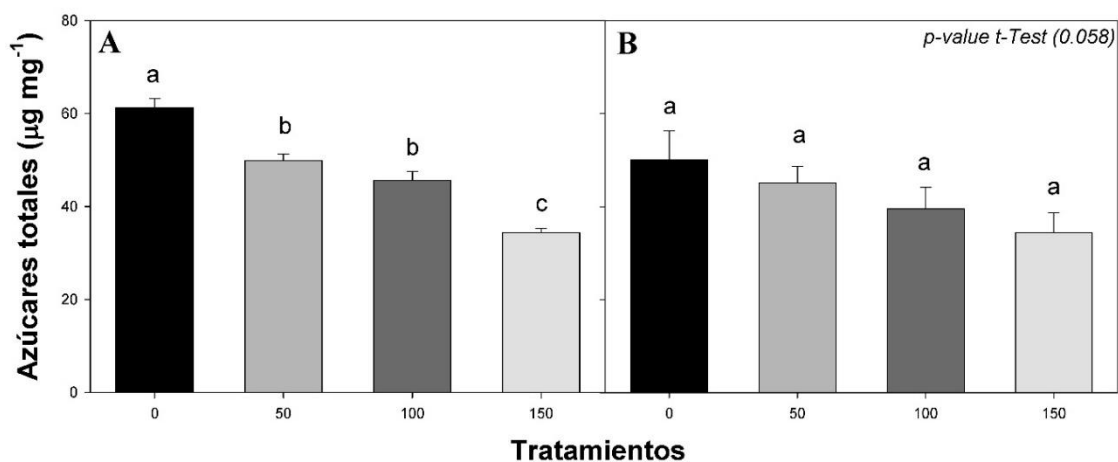


Fig. 1-8. Contenido de azúcares totales en hojas de gulupa a diferentes dosis de aplicación foliar con B. primer ciclo **A** y segundo ciclo **B**. Letras diferentes indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$) entre dosis de B de acuerdo con la prueba paramétrica *Tukey*; *p*-valor de la prueba de *t* de *student* $\leq 0,05$ indica diferencias entre los dos ciclos de producción. Las barras verticales corresponden al error estándar

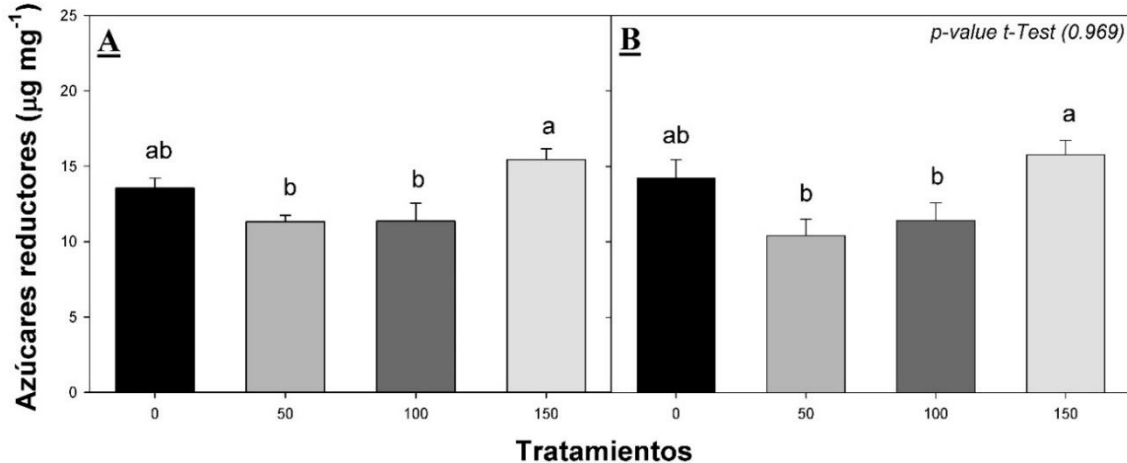


Fig. 1-9. Contenido de azúcares reductores en hojas de gulupa a diferentes dosis de aplicación foliar con B. Primer ciclo **A** y segundo ciclo **B**. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre dosis de B de acuerdo con la prueba paramétrica *Tukey*; *p*-valor de la prueba de *t* de *student* $\leq 0,05$ indica diferencias entre los dos ciclos de producción. Las barras verticales corresponden al error estándar.

En el segundo ciclo productivo el contenido de azúcares totales no presentó diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ($P \geq 0,05$); sin embargo, se evidenció un comportamiento descendente similar al observado en el primer ciclo productivo, encontrando el valor más alto para el T0 ($50,05 \mu\text{g mg}^{-1}$) y el menor para el T150 ($34,39 \mu\text{g mg}^{-1}$), lo cual representa una reducción del 31,28% en el contenido de azúcares totales (Fig. 1-8B). En cuanto al contenido de azúcares reductores el T150 presentó el mayor contenido ($15,76 \mu\text{g mg}^{-1}$), seguido por el T0 ($14,22 \mu\text{g mg}^{-1}$), T100 ($11,40 \mu\text{g mg}^{-1}$) y T50 ($10,49 \mu\text{g mg}^{-1}$). Se resalta que las plantas del primer ciclo productivo presentaron para todos los tratamientos mayor contenido de azúcares totales con respecto a las plantas del segundo ciclo, en cuanto al contenido de azúcares reductores no se observa esta condición.

En cuanto al contenido foliar de B en hojas en el primer ciclo productivo se observó que a medida que la concentración de B en la solución foliar aumenta para cada tratamiento, también se presenta un incremento en la concentración de este elemento en el tejido

vegetal, los valores obtenidos fueron: T0: 5,55 mg kg⁻¹; T50: 10,55 mg kg⁻¹; T100: 14,40 mg kg⁻¹ y T150: 17,20 mg kg⁻¹, presentándose un incremento del 209,9 % para el T150 frente al T0 (Anexo E1). En el segundo ciclo productivo la tendencia del aumento de la concentración de B en los tejidos es similar a la observada en el primer ciclo; sin embargo, los contenidos foliares de B en el tejido son superiores comparados con el primer ciclo, encontrando valores para el T0 de 66,13 mg kg⁻¹; T50: 70,65 mg kg⁻¹; T100: 75,85 mg kg⁻¹ y T150: 73,00 mg kg⁻¹ (Anexo E2); en cuanto a los datos observados para este segundo se ciclo se destaca que no se presenta un incremento marcado para cada tratamiento comparado con los valores obtenidos en el primer ciclo, presentándose un incremento del 14,69% para T100 frente al T0.

1.4 Discusión

Los resultados obtenidos en la curva de respuesta fotosintética a los diferentes niveles de PPFD mostró para todos los tratamientos con adición de B en la solución foliar el aumento de los parámetros A_N y ϕ ; mientras que un comportamiento contrario se presenta para las variables PCL y PSL, donde se observa una disminución a medida que aumenta la concentración de B en la solución foliar. Los valores de A_N obtenidos en esta investigación para todos los tratamientos concuerdan con los valores obtenidos por Pérez-Martínez y Melgarejo (2015) para gulupa en etapa de floración los cuales oscilan entre 9,69 y 19,95 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, encontrando en la presente investigación que la A_N en respuesta a la PPFD no se ve afectada, independientemente del tratamiento. Sin embargo, la aplicación de B disminuye el PCL y PSL, alcanzando para el T150 valores de 5,92 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ y 112,28 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, respectivamente, lo que indica que el T150 necesitó una menor cantidad de luz (5,92 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) para que la fotosíntesis esté por encima de la respiración, y así mismo T0 y T50 presentaron los mayores PCL lo que indica que se requiere mayor cantidad de luz para tener una ganancia neta de carbono.

Lo valores anteriormente descritos son inferiores a los reportados en gulupa, en donde bajo diferentes condiciones ambientales el PCL oscila entre 26,4 y 22,9 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ y para el PSL se presentan valores de 215,46 y 402,92 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Pérez-Martínez y Melgarejo, 2015). Lo anterior sugiere que con la aplicación foliar de B se favorecen mayores tasas de A_N a un bajo PSL, lo que indica que bajo esta aplicación la

planta de gulupa es capaz de hacer mejor uso de la luz disponible y así realizar la fotosíntesis con mayor eficiencia (Abreu *et al.*, 2014), lo cual se corrobora con los altos valores obtenidos para ϕ en los tratamientos con adición de B, excepto lo obtenido para el T50 (Tabla 1-2). El T50 aunque presentó un incremento en la A_N con respecto a T0, reflejó una baja eficiencia cuántica lo que está asociado al incremento en la RD, infiriendo que la gulupa bajo la aplicación de $0,3 \text{ kg ha}^{-1}$ de B es más eficiente en el uso del carbono ya que presentó las menores pérdidas de CO_2 mediante bajas tasas de respiración.

En el primer ciclo productivo del cultivo se presentó el aumento gradual de la A_N a medida que se aumenta la concentración de B en la solución foliar, siendo el T0 el que presentó la menor A_N (Fig. 1-2), en el segundo ciclo productivo se observó que solo el T50 presentó un aumento considerable en la A_N , y a medida que se incrementó el B en la aplicación foliar la A_N disminuye, pero no es inferior al valor presentado para T0. Marschner, (2012) indica que el B no participa directamente en los procesos de fotosíntesis debido a que no se ha reportado que el B sea constituyente de enzimas fotosintéticas; sin embargo, Moreno *et al.* (2016) afirman que tanto la deficiencia como la toxicidad de B disminuyen la fotosíntesis en diversas plantas, y que los efectos del B en la fotosíntesis no se presentan de manera directa, sino que son el resultado de una serie de alteraciones en otros procesos bioquímicos y fisiológico; adicionalmente, investigaciones recientes han encontrado que la deficiencia y exceso de B en especies vegetales pueden presentar limitaciones estomáticas y no estomáticas de la fotosíntesis (Sheng *et al.*, 2009; Bogiani *et al.*, 2013).

Las deficiencias de B en los dos ciclos productivos (T0) presentaron la menor A_N , y para el caso del segundo ciclo productivo los tratamientos T100 y T150 registraron una menor A_N respecto a T50. Los resultados anteriores concuerdan con lo propuesto por Pinho *et al.* (2010), quienes indican que la deficiencia o exceso por B genera una disminución en los parámetros de intercambio gaseoso. En *Citrus sinensis* se ha reportado que la deficiencia de B causa una disminución del 78% en la A_N (Han *et al.*, 2008) y bajo condiciones de exceso en *Citrus clementina* genera una disminución del 27% (Papadaskis *et al.*, 2004), indicando que la A_N es más limitada bajo condiciones de deficiencia que de exceso. Así mismo en especies de hábito trepador como *Cucurbita pepo* y kiwi bajo condiciones de exceso de B se presentó una reducción del 17 y 31 % en la A_N (Sotiropoulos *et al.*, 2002;

Landi *et al.*, 2013b). En el presente estudio, este mismo patrón de reducción de la tasa de fotosíntesis bajo deficiencia se presentó en los dos ciclos productivos evaluados, y la condición de exceso de B causó una reducción de la A_N sólo en el segundo ciclo productivo. En cuanto a la E se encontró que para ambos ciclos productivos mostró un incremento con la aplicación foliar de B, sin presentar un patrón en función de la adición de B en los tratamientos, adicionalmente se destaca que el aumento de la E está acompañado de un incremento de la g_s , indicando que la E es regulada por la apertura estomática; sin embargo, no se presentaron diferencias estadísticamente significativas ($P > 0,05$) en el WUEe.

La disminución en la A_N bajo condiciones limitantes de B en esta investigación puede estar asociada a los bajos valores de g_s presentadas en el primer ciclo productivo (Fig. 1-2). Landi *et al.* (2013a) indican que la disminución de la A_N está correlacionada positivamente con la reducción de la g_s ; sin embargo, no se ha dilucidado completamente el mecanismo por el cual la deficiencia o toxicidad por B disminuye la g_s , pero puede estar relacionado con la inducción de cierre estomático. En el primer ciclo productivo la deficiencia de B causó una reducción de A_N y g_s ; no obstante, los valores de C_i no disminuyeron, lo que sugiere que la reducción en la A_N no está asociada a limitaciones no estomáticas de la fotosíntesis (Flexas, 2004), puesto que no se presenta una reducción de la concentración de CO_2 en los sitios de carboxilación de la Rubisco, lo cual se refleja en la similitud de los valores de C_i/C_a obtenidos para todos los tratamientos (Fig 1-2). Adicionalmente plantas del primer ciclo productivo bajo deficiencia de B, a pesar de presentar una capacidad reducida de asimilación de CO_2 se observa que presentan una optimización en la WUEi (Fig. 1-2).

Por otra parte, en el tratamiento de mayor concentración de B (T150) para el segundo ciclo productivo se observó una disminución de g_s y de A_N , y a diferencia de lo obtenido en el primer ciclo productivo, la cantidad de C_i fue menor reflejada en una menor relación de C_i/C_a (Fig. 1-2). De lo anterior se puede sugerir que la condición de exceso de B en el segundo ciclo presentó mayores limitaciones en los parámetros de intercambio gaseoso, y que posiblemente bajo esta condición de exceso se presentaron limitaciones estomáticas de la fotosíntesis. Sin embargo, la condición de exceso no generó una disminución marcada de los parámetros de intercambio gaseoso como si sucede bajo condición de

deficiencia, lo cual concuerda con lo propuesto por Moreno *et al.* (2016) quienes indican que la A_N es más sensible a condiciones de deficiencia de B, comparado con condiciones de toxicidad.

En el presente estudio se encontró en ambos ciclos productivos que a medida que aumenta la concentración de B en la solución foliar no se presenta una reducción en la concentración de K^+ en hojas (Anexo E1 y E2), lo que puede sugerir que la aplicación de B no tiene una interacción negativa sobre la absorción de K^+ bajo las concentraciones de B usadas en esta investigación, contrario a lo reportado por Salustriano *et al.* (2015); lo anterior sugiere que la disminución en la A_N bajo los tratamientos foliares con B usados en esta investigación no está asociada a limitaciones estomáticas de la fotosíntesis, desde el punto de vista del cierre y apertura de los estomas. Reportes indican que condiciones de deficiencia de B están asociadas a limitaciones estomáticas de la fotosíntesis (Bogiani *et al.*, Mukhopadhyay *et al.*, 2013; Han *et al.*, 2008; Papadakis *et al.*, 2004), y que dicha limitación se debe a que condiciones de bajo suministro de B induce daños en las membranas de las células guarda de los estomas, afectando el funcionamiento de las bombas de protones (ATPasa/ H^+) (Ahmad *et al.*, 2009; Marschner, 2012; Liu *et al.*, 2014), ocasionando la disminución de la absorción de K^+ y favoreciendo la salida pasiva de K^+ de células guarda de los estomas (Wimmer y Eichert, 2013). Por el contrario, para *Vitis vinífera* se reportó que bajo el exceso de B (30 mg kg^{-1}) se presentan limitaciones estomáticas de la fotosíntesis asociada al incremento en la resistencia estomática, limitando la apertura de los estomas (Gunes *et al.*, 2006). Adicionalmente, las limitaciones estomáticas también están atribuidas a que la deficiencia de B disminuye la densidad de estomas y afecta el funcionamiento y la morfología de los mismos, debido a la acumulación de azúcares en ellos (Will *et al.*, 2011 y Bogiani *et al.*, 2013). No obstante, también se ha documentado que tanto la deficiencia como la toxicidad de B pueden genera limitaciones no estomáticas de la fotosíntesis.

Dichas limitaciones no estomáticas han sido bien estudiadas en diversas especies vegetales y pueden ser debidas a varios procesos tales como: daños en las membranas ocasionados por la deficiencia de B, afectando las proteínas que participan en la fotosíntesis (Pinho *et al.*, 2010). También se presenta una alteración en la actividad de las

enzimas fotosintéticas en donde tanto la deficiencia como la toxicidad de B disminuyen significativamente las actividades de las enzimas Rubisco, NADP-GAPDH, y FBPasa del estroma, las cuales participan en las reacciones de luz en el proceso de fotosíntesis (Zhao y Oosterhui, 2002; Han *et al.*, 2008; Han *et al.*, 2009); así mismo se han reportado que condiciones de deficiencia y toxicidad de B generan una acumulación de hexosas y almidón en las hojas ocasionando daños en la estructura de los cloroplastos y por tanto generando alteración en la eficiencia fotosintética (Ruuhola *et al.*, 2001; Wimmer y Eichert, 2013). El mecanismo por el cual el estrés por B afecta a las enzimas que participan en la fotosíntesis se considera desconocido o poco investigado; sin embargo, puede estar relacionado con la acumulación de hexosas (glucosa y fructosa) y la disminución de la translocación de fotoasimilados en las hojas de las plantas con deficiencia de B (Zhao y Oosterhui, 2002; Han *et al.*, 2008; Bariya *et al.*, 2004; Oliveira *et al.*, 2006), conllevando a la disminución de la expresión de genes que codifican para enzimas de la fotosíntesis (Krapp *et al.*, 1993). Aunque en esta investigación no se realizó la cuantificación de enzimas participantes en reacciones de luz de la fotosíntesis que pudieran soportar los cambios en la A_N bajo los diferentes tratamientos foliares de B, si se determinó la concentración de azúcares totales en hojas, lo cual será discutido más adelante.

Adicionalmente y teniendo en cuenta que las mediciones se realizan bajo condiciones constantes programadas en el equipo IRGA, las diferencias de A_N presentadas entre ciclos productivos pueden deberse también a las diferencias en las condiciones ambientales puntuales presentadas el día de muestreo, en especial asociado a la PAR, que pueden afectar la planta entera;. Sin embargo, los valores de A_N obtenidos en esta investigación se encuentran dentro de los reportados para esta especie en etapa de floración y fructificación Pérez (2013). Pérez (2013) indica que la gulupa presenta valores de A_N entre 8,88 y 19,93 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. En estado de fructificación para esta especie y otras pasifloras se ha reportado que la A_N incrementa ya que la planta debe maximizar su tasa fotosintética para satisfacer la demanda de fotoasimilados por parte de los frutos (Perez, 2013; Melgarejo y Pérez, 2012; Rodríguez-Castillo y Melgarejo, 2015), a diferencia de otras especies de hábito trepador como la uva en donde en la etapa de fructificación se presenta una disminución de la A_N debida a la edad de la hoja y a la degradación de proteínas (Salazar-Parra *et al.*, 2012)

La fluorescencia de la clorofila brinda información sobre el estado del fotosistema II y de la presencia de algún estrés biótico o abiótico en la planta (Baker, 2008; Maxwell y Johnson, 2000), siendo la F_v/F_m un buen indicador del estado del fotosistema II, debido a que refleja la acumulación de centros de reacción del fotosistema que no están funcionales (Baker, 2008). En esta investigación se encontró que la aplicación foliar de B, no causó un efecto en la F_v/F_m indicando que las plantas sometidas a los diferentes tratamientos foliares presentan una transformación eficiente de la energía lumínica del PSII para la producción de ATP y NADPH (Abreu *et al.*, 2014). Los valores obtenidos en esta investigación concuerdan con lo reportado para gulupa por Pérez (2013) y Melgarejo y Pérez, (2012).

Aunque las variables de la fluorescencia de la clorofila en respuesta a la aplicación foliar o edáfica en especies de pasiflora no ha sido muy estudiada, resultados similares fueron reportados por Stavrianiakou *et al.* (2006) quienes afirman que con deficiencia de B no se ve afectado la F_v/F_m en *Dittrichia viscosa* (Asteraceae); sin embargo, estudios más cercanos a especies frutales tales como la mandarina muestran que los parámetros de fluorescencia de la clorofila son menos afectados por deficiencia de B que por exceso, indicando que bajas cantidades de B en plantas inhiben menos los aceptores del PSII (Han *et al.*, 2009). Adicionalmente, en especies de hábito trepador como *Cucurbita pepo* y *C. sativus* bajo exceso de B muestran una regulación negativa de la F_v/F_m (Landi *et al.*, 2013a).

En cuanto a ϕ_{PSII} se encontró en ambos ciclos que para el T0 y T150 se presentan los menores valores, y con la aplicación de T50 y T100 aumenta la eficiencia operacional de PSII. Aunque en especies frutales es limitada la información relacionada con el efecto del B en la fluorescencia de la clorofila, se ha documentado para la especie *Solanum lycopersicum* y *Ocimum basilicum* bajo condiciones de exceso de B la reducción del rendimiento cuántico fotoquímico en el área marginal y central de la hoja, debido a alteraciones en la proporción de centros de reacción abiertos del PSII (Guidi *et al.*, 2011; Landi *et al.*, 2013), indicando que se disminuye la apertura u oxidación de los centros de reacción del PSII por la baja re-oxidación de la Q_A (primer aceptor de electrones) y por tanto no se produce el ATP y NADPH, productos de la cadena transportadora de electrones, afectando así el Ciclo de Calvin, lo cual está asociado a bajos valores de A_N (Guidi *et al.*,

2011). Lo anterior también se presentó para *Triticum aestivum* en donde parámetros de la fluorescencia se ven más limitados bajo exceso que deficiencia; en condiciones de exceso esta especie presenta una disminución de ϕ_{PSII} , debido a la pérdida en la conectividad entre la energía que atrapa la antena y por tanto no va al centro de reacción y es disipada (Turán *et al.*, 2014). Así mismo, en condiciones de toxicidad por B, Gimeno *et al.* (2012) encontraron en *Citrus limón* una disminución de Fv/Fm (0,48 a 0,37) y de ϕ_{PSII} (0,66-0,55), dicha reducción es atribuida a posibles daños que el exceso de B causa en la estructura de los cloroplastos, como anteriormente había sido presentado para otras especies cítricas (Papadaski *et al.*, 2004). Han *et al.* (2009) sugieren que el PSII es menos fotoinhibido bajo la deficiencia de este nutriente que en condiciones de toxicidad; sin embargo, en la presente investigación se obtuvo que la condición de deficiencia presentó los menores valores de Fv/Fm y ϕ_{PSII} , pero dichos valores no reflejan una limitación en la eficiencia del aparato fotosintético debido a que se encuentran dentro de los rangos óptimos, en donde valores de Fv/Fm son superiores a 0,82, indicando un óptimo estado del PSII (Maxwell y Johnson, 2000), mientras que valores menores de 0,79 indican la presencia de algún tipo de estrés (Demmig y Adams, 2006). Para el ϕ_{PSII} se ha reportado para gulupa valores que oscilan entre 0,45 y 0,77 (Perez, 2013). Cuando una planta está sometida a condiciones de estrés se presenta una disminución de la ϕ_{PSII} la cual es considerada normal, y se debe a la desviación de los electrones expresados en energía disipada por calor evitando el daño del PSII a causa de los daños presentados en los centros de reacción asociados al exceso de B en hojas (Hajiboland, 2012; Turan *et al.*, 2014; Nali *et al.*, 2015); sin embargo, los bajos valores de la ϕ_{PSII} en el T150 en los dos ciclos no son inferiores a los presentados por el T0, indicando que la eficiencia operacional del fotosistema II es más limitante bajo condiciones de déficit de B y no de exceso como es reportado para otras especies, o también puede deberse a que el T150 no generó condiciones de estrés en plantas de gulupa.

Como anteriormente se mencionó la disminución en la A_N bajo los tratamientos foliares con B, usados en esta investigación, no está asociada a limitaciones estomáticas de la fotosíntesis, desde el punto de vista del cierre y apertura de las estomas, sugiriendo que la reducción de la A_N posiblemente puede estar asociada a factores no estomáticos. Lo anterior puede relacionarse con lo encontrado para el contenido de clorofilas, en donde en el primer ciclo el contenido de clorofilas es mayor a medida que aumenta la concentración

de B en la solución foliar, patrón similar se presenta para la A_N , y aunque en el segundo ciclo productivo no es claro el incremento de la clorofila en función de la aplicación de B, se resalta que bajo condición de deficiencia y exceso se registraron los menores contenidos.

Se ha documentado que bajo condiciones de estrés por B se presenta una disminución en la actividad fotosintética expresada en una reducción de A_N y diversos parámetros de la fluorescencia de la clorofila; también diversos autores relacionan estas limitaciones fotosintéticas con una disminución en el contenido de clorofilas a causa de los cambios en la integridad y composición de las membranas y de la ultraestructura de los cloroplastos (Camacho y Gonzales, 1999; Papadaski *et al.*, 2004). Otros autores señalan que los cambios en el contenido de clorofilas se debe a que bajo condiciones de estrés por B se aumenta la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) a causa de la fuga de electrones de la cadena de transportadora de electrones al oxígeno molecular en los cloroplastos y mitocondrias, generando un estrés oxidativo; sin embargo se ha descrito esta respuesta frente a condiciones extremas de toxicidad con este elemento (Wang *et al.*, 2010; Singh *et al.*, 2010; Yusuf *et al.*, 2011; Archana, 2013).

Resultados similares a los obtenidos en la presente investigación fueron reportados en otras especies frutales como la mora (*Rubus glaucus*), en donde la concentración de CHL total disminuyó bajo condiciones de deficiencia de B, pero en caso de exceso no se observó una disminución significativa en las concentraciones de *CHLa* y *CHLb* (Tewari *et al.*, 2009). Lo mismo sucedió en *Citrus sinensis* y *Cocos nucifera* en condiciones limitadas de B (0 μ M) donde se redujo el contenido de CHL total en un 46,03 y 13,9%, respectivamente, dichos autores sugieren que este comportamiento puede posiblemente ser debido a una alteración en el sistema de síntesis de clorofila y/o a la actividad de la enzima clorofilasa (Han *et al.*, 2009 y Pinho *et al.*, 2010). Estudios en *P. edulis* Sims f. *flavicarpa* han mostrado que la ausencia de B en el sustrato de crecimiento de plántulas generó una clorosis en las hojas asociada a la reducción en el contenido de CHL total (Salustriano *et al.*, 2015).

En el presente estudio también se encontró un leve aumento en el contenido de *CHLb* a medida que incrementa el B en los tratamientos foliares; al respecto, resultados similares

se han presentado en otras especies vegetales como *Catharanthus roseus* y *Camellia sinensis* en donde al ser expuestas a altas concentraciones de B se reduce significativamente la relación *CHLa/b* indicando un aumento en el contenido de la *CHLb*, acompañado de un incremento en las concentraciones de carotenoides (Hajiboland *et al.*, 2011; Archana *et al.*, 2012). Aunque el aumento de *CHLb* no ha sido bien dilucidado bajo condiciones de estrés por B, se ha demostrado que bajo diversos estrés abiótico se presentan cambios en la distribución y orientación de las proteínas de las CHL presentes en la membrana tilacoide, generando modificaciones en la relación *CHLa/b* (Gururani *et al.*, 2015). Adicionalmente, es de resaltar que el aumento de la *CHLb* tiene un papel importante debido a que la disponibilidad de *CHLb* influye en la composición y en el tamaño de los complejos de antena, y a su vez determinan la organización supramolecular de las membranas tilacoides en la grana, siendo entonces la síntesis de *CHLb* importante en la movilidad y la difusión de las moléculas de la membrana, afectando no sólo los procesos de recolección de luz y disipación de energía térmica, sino también el transporte de electrones y los procesos de reparación de la grana bajo condiciones de estrés abiótico (Gururani *et al.*, 2015).

Así como se observó en la presente investigación un leve aumento del contenido de *CHLb*, también se presentó un incremento del contenido de carotenoides a medida que se incrementa la concentración de B en la aplicación foliar; sin embargo, se resalta que el incremento del contenido de carotenoides no es gradual a la aplicación de B. Es bien conocido que los carotenoides son pigmentos que desempeñan un papel importante de fotoprotección en la disipación del exceso de energía evitando así daños fotooxidativos en los cloroplastos (Esteban *et al.*, 2015). Este incremento en el contenido de carotenoides también ha sido observado bajo condiciones de exceso de B para *Citrus sinensis* (Han *et al.*, 2008) y *Zea mays* (Ogunwole *et al.*, 2015). De acuerdo con Archana *et al.* (2012) la condición de deficiencia de B causa una disminución en la relación chl/carotenoides en estados tempranos de la deficiencia, lo cual puede ser una característica adaptativa para proteger los cloroplastos del daño fotooxidativo. En general, en el presente estudio, se encontró que el contenido de carotenoides es mayor cuando se incrementa la concentración de B en la aplicación foliar, resaltando que la A_N en el primer ciclo no se ve afectada, de lo cual se puede inferir que para el caso de gulupa probablemente los carotenoides realizan un papel de fotoprotección. Sin embargo, en el segundo ciclo el

contenido de carotenoides disminuye en el T100 y 150, lo cual puede indicar que bajo estas concentraciones se pueden ver afectada la producción de estos pigmentos. Resultados similares fueron reportados por Archana *et al.* (2012).

Han *et al.* (2008) indican que la disminución del contenido de CHL para *Citrus sinensis* está directamente relacionada con el daño a los cloroplastos causados por la acumulación de azúcares y almidón en plantas sometidas a deficiencia de B (0 μ M), causando como resultado la disminución en la A_N y F_v/F_m . Resultados similares se presentaron en la presente investigación, en donde las plantas de gulupa sometidas a T0 mostraron valores superiores, comparado con los otros tratamientos, en el contenido de azúcares solubles para los dos ciclos productivos. Igualmente, ha sido bien documentado que bajo deficiencia de B se presenta acumulación excesiva de azúcares reductores (glucosa y fructosa), y almidón en las hojas (Wang *et al.*, 2010; Bogiani *et al.*, 2013), lo cual no pudo ser corroborado en este trabajo.

Se ha sugerido que la acumulación de azúcares en condiciones de deficiencia de B se debe a la acumulación de hexosas a través de la actividad de enzima invertasa, la cual puede exceder la capacidad de la hexoquinasa para fosforilar hexosas y así desencadenar regulación negativa del ciclo de Calvin causando una inhibición de la capacidad fotosintética (Han *et al.*, 2008). Lo anterior puede estar relacionado con el papel que desempeña el B en el transporte de azúcares. Recientemente se ha estudiado que el B puede transportarse vía floema, debido a que el B tiene la capacidad de formar complejos con azúcares alcoholes como el sorbitol y el manitol (Papadaskis *et al.*, 2004; Tanaka y Fujiwara, 2008) formando complejos "B-poliol", ya que los azúcares alcoholes contienen grupos cis-hidroxilo los cuales pueden unirse fácilmente al ácido bórico y de esta forma puede ser transportado vía floema (Camacho *et al.*, 2008; Lehto *et al.*, 2010; Broadley *et al.*, 2012).

Lo anterior supone que la limitación de B disminuye la descarga de los fotoasimilados al floema, acumulándose en las hojas y afectando proceso de la fotosíntesis (Brown y Shelp, 1997; Reid *et al.*, 2004). Un comportamiento similar se presenta bajo toxicidad de B en especies que no tienen la capacidad de removilizar el B vía floema y en el cual el transporte está limitado al proceso de transpiración, causando así la acumulación de azúcares en

hojas, principalmente en hojas jóvenes, las cuales aumentan la tasa de E (Nali *et al.*, 2015). Aunque en este estudio no se realizó la determinación de almidón, se ha reportado que la deficiencia también está asociada a la acumulación de almidón en los cloroplastos, lo que puede afectar la estructura de los mismos, y de esta forma generar una regulación negativa de la fotosíntesis (Cakmak y Romheld, 1997; Lu *et al.*, 2013).

El contenido de azúcares reductores fue mayor en los tratamientos T0 y T150 para ambos ciclos productivos, dicho incremento en los azúcares reductores ha sido documentado cuando las plantas son sometidas a condiciones de estrés abiótico, considerando a los azúcares reductores osmolitos de bajo peso molecular que realizan un papel de ajuste osmótico y también tienen la función de osmoprotección debido a la capacidad estabilizadora sobre proteínas y sistemas de membranas (Moreno, 2009).

Por otra parte, los resultados obtenidos mostraron que la concentración de B en hojas de gulupa incrementó a medida que la concentración de B en la solución foliar aumenta (Anexo E1 y E2), presentando los mayores contenidos de B hojas del segundo ciclo productivo, lo que sugiere que el B se va acumulando en las hojas a medida que es aplicado en altas concentraciones. Estos resultados coinciden con previos estudios (Papadakis *et al.*, 2004), indicando que de los diferentes órganos de las plantas, bajo condiciones de altas dosis de B, este elemento se acumula principalmente en hojas y posteriormente en tallos y raíces (Sheng *et al.*, 2010). Estudios en *P. edulis* Sims f. *flavicarpa* reportan que un aumento en la dosis de B es proporcional a la cantidad de B en los tejidos foliares (Freitas *et al.*, 2006), se ha documentado concentraciones foliares de 0,9, 13, 21 y 25 mg kg⁻¹ de B en tejidos con aplicaciones de 0; 0,25; 0,50 y 0,75 mg dm⁻³ de B (Sousa *et al.*, 2011).

En este sentido la E en hojas es un parámetro importante que influye en la capacidad de la planta para para movilizar el B, en especial en plantas que presentan bajas o nulas cantidades de polioles, y que debido a la poca removilización del B este tiende a acumularse en tejidos vegetales (Cevilla, 2009), debido a que el B se considera un elemento poco móvil vía floema acumulándose por corriente de transpiración; sin embargo, como anteriormente se mencionó la movilidad depende de la especie vegetal y la capacidad para formar complejos B-poliol (Tanaka y Fujiwara, 2008).

Se sugiere que la disminución de los parámetros de intercambio gaseoso y el contenido de CHL para el T0 y T150 en el segundo ciclo productivo, probablemente está asociado a la acumulación de B en hojas a través del tiempo, aunque se ha reportado que el contenido promedio de B en tejidos foliares para especies dicotiledóneas esta entre 20-70 mg kg⁻¹ de peso seco (Marschner, 2012); aunque para plantas de maracuyá las concentraciones ideales de boro en la hoja se encuentran dentro del rango de 39-47 mg kg⁻¹ de materia seca (Sousa *et al.*, 2001). Lo anterior indica que en el segundo ciclo productivo el contenido de B en hojas está cerca del límite superior al rango reportado y que los niveles de B presentados en este estudio no son considerados altamente tóxicos.

1.5 Conclusiones

Las plantas de gulupa sometidas a deficiencia de B mostraron para ambos ciclos productivos bajos valores de A_N asociada a una baja g_s ; sin embargo, no se observó un incremento en C_i , lo cual sugiere que las plantas no presentan una limitación estomática en condiciones de deficiencia de B.

No se observó en el primer ciclo productivo afectaciones en el intercambio gaseoso y en el contenido de CHL cuando se incrementa la concentración de B en la solución foliar, por tanto se puede inferir que el mayor efecto se presentó bajo condiciones limitadas de B, registrando altos contenidos de azúcares totales, azúcares reductores y bajos contenidos de carotenoides, y una leve reducción de F_v/F_m y ϕ_{PSII} , justificando la reducción de la A_N . Por el contrario, en el segundo ciclo productivo se observó que el aumento en la concentración de B para T100 y T150 genera un efecto negativo sobre la A_N , g_s , C_i/C_a y CHL, así mismo se presentó un aumento de la concentración foliar de B, la cual puede ser la causa de que estos tratamientos presenten efectos negativos sobre las anteriores variables. En general, en este estudio las mayores limitaciones se presentaron bajo deficiencia de B, y por el contrario las concentraciones de B en la solución foliar usadas en el T150 no mostraron un efecto negativo marcado sobre las variables evaluadas, sugiriendo que este tratamiento no representó una condición de exceso de este elemento. Por otro lado, las plantas de gulupa con la aplicación del T100 para el primer ciclo

productivo mostraron la mejor respuesta fisiológica, mientras que para el segundo ciclo se obtuvo con la aplicación del T50.

2. Capítulo II: Desarrollo fenológico de plantas de gulupa en etapa productiva bajo la aplicación foliar de boro en condiciones de campo

2.1 Introducción

La gulupa (*Passiflora edulis* f. *edulis* Sims) pertenece a la familia Passifloraceae y al género *Passiflora* (Ocampo y Wyckhuys, 2012), es un frutal perenne de crecimiento indeterminado donde el crecimiento vegetativo y reproductivo ocurren al mismo tiempo presentado superposición de estados de desarrollo (Angulo, 2009; Jiménez *et al.*, 2012), lo que permite generar oferta constante de frutos. Es la segunda especie de importancia económica dentro del género *Passiflora* puesto que puede consumirse en fresco y procesada, además de su alta demanda por mercados internacionales debido a su contenido nutricional, sabor y aroma (Ocampo *et al.*, 2007; Jiménez *et al.*, 2011).

La gulupa presenta una raíz ramificada, tallo angular semileñoso glabro y hueco, posee zarcillos permitiendo que la especie sea de hábito trepador, las hojas son alternas, trilobuladas y glabras, los fitómeros están compuestos por una hoja, un zarcillo, un brote vegetativo y uno reproductivo, las flores son solitarias, hermafroditas, pentámeras con pétalos de color blanco, corona de color púrpura y blanco, presenta un ovario tricarpelar con un estilo que puede adquirir diferentes curvaturas, lo cual caracteriza a la especie por tener tres tipos diferentes de flores (Ortiz, 2010), los frutos son bayas ovoides de pericarpio grueso y arilo pulposo de color naranja, al finalizar la maduración el pericarpio cambia de color verde a púrpura (Jiménez *et al.*, 2012).

Comercialmente a esta especie se le realizan una serie de podas con el objetivo de modificar la bioarquitectura para permitir la ramificación, se realizan podas de formación, mantenimiento y producción. La inducción de ramas terciarias o cuaternarias es importante debido a que estas ramas son las que portan los botones florales que se convertirán en los futuros frutos a cosechar, adicionalmente sobre estas ramas se hace la poda de producción cuando ha terminado un ciclo productivo.

El seguimiento al desarrollo fenológico en etapa reproductiva y productiva de frutos permite construir curvas de crecimiento y desarrollo las cuales son útiles para optimizar el manejo del cultivo a través de la construcción adecuada de planes de manejo en labores tales como riego, fertilización, tiempo de cosecha entre otras (Rulm y Vulic, 2005); adicionalmente, el análisis de crecimiento permite una aproximación cuantitativa a partir de datos simples obteniendo como resultado una descripción e interpretación de las plantas que crecen bajo diferentes ambientes (Hunt, 2003). Así mismo en especies frutales, las curvas facilitan ajustar a un modelo matemático a partir de las variables de crecimiento, dando como resultado la predicción del tamaño de la fruta (Godoy *et al.*, 2008).

Recientemente el estudio de la fenología de especies frutales está enfocado a la respuesta frente a variaciones climáticas (Yaacoubi *et al.*, 2014); sin embargo, algunos autores consideran que el aumento en los recursos nutricionales también puede influir en el desarrollo fenológico de las especies (Chmielewski, 2013). No obstante, la influencia de la disponibilidad de nutrientes y el efecto sobre la fenología no ha sido bien documentado, aunque se cuenta con documentación del efecto nutricional sobre componentes de rendimiento de especies frutales.

Las principales funciones del B en las plantas están relacionadas con la habilidad del B en formar complejos “B-Poliol” con compuestos biológicos que tienen grupos hidroxilo en configuración Cis (Cis-dioles), los cuales son móviles en el floema (Papadaskis *et al.*, 2004; Camacho *et al.*, 2008). En este sentido, el B desempeña un papel estructural importante como componente del complejo Rhamnogalacturonano II (RGII) que une polisacáridos de la pared celular (Cakmak y Romheld, 1997), ocasionando que la deficiencia de este elemento presente efectos anatómicos, fisiológicos y bioquímicos como daños en la expansión celular e integridad de membranas, afectando el crecimiento y desarrollo de las plantas (Mei *et al.*, 2016).

El B también desempeña un papel importante en el desarrollo floral de muchos cultivos, se ha reportado que la deficiencia de este elemento causa limitada producción de flores, baja producción y viabilidad de polen, infertilidad de flores y caída prematura de flores y frutos (Nymora y Brown, 1997; Perica *et al.*, 2001). Se considera que esos efectos pueden ser observados en ausencia de síntomas vegetativos o reducción del crecimiento, lo que indica

que el requerimiento de B en los tejidos reproductivos es mayor que en los tejidos vegetativos o que la liberación del B a los tejidos reproductivos es limitada, diversas investigaciones confirman ambas afirmaciones (Iwai, 2006).

Estudios recientes han reportado que el bajo porcentaje de cuajado de algunas especies frutales está asociado a pistilos subdesarrollados, producción de flores más pequeñas y poca viabilidad del polen; estos fenómenos están relacionados con bajos contenidos de almidón y translocación de carbohidratos a estas estructuras, lo cual está relacionado con deficiencias nutricionales asociadas con B en la etapa de floración y fructificación. Lo anterior ha sido bien documentado para las especies *Olea europea* (Perica *et al.*, 2001), *Prunus armeniaca* (Rodrigo *et al.*, 2000), *Persea americana* Mill (Boldingh *et al.*, 2016), *Punica granatum* (Davarpanah *et al.*, 2016). Así mismo se ha demostrado que la aplicación foliar de B genera un efecto positivo en la germinación del polen y en el crecimiento del tubo polínico, aumentando así el porcentaje de cuajado de fruto (Sarkar *et al.*, 2007).

Existe un vacío en la información acerca del efecto de la aplicación de B en especies de *Passiflora* en etapa productiva, Freitas *et al.* (2006) indican que en *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* bajo deficiencia de B presenta una reducción del 30% en el número de frutos por planta, y un 21% menos de peso de los frutos. También en esta especie ha sido reportada la sintomatología asociada a deficiencias de B, las cuales son flores secas, flores con deformaciones, presentando número y tamaño anormal de estilos y estigmas (Freitas *et al.*, 2011). Sin embargo, no se ha documentado si la aplicación foliar de B tiene influencia sobre el crecimiento y desarrollo de flores y frutos. Para el caso de gulupa se ha estudiado la fenología reproductiva y el crecimiento del fruto en diferentes zonas bajo diversas condiciones ambientales (Flórez *et al.*, 2012), pero no se ha documentado el efecto de la fertilización mineral con B sobre el cuajado de frutos, crecimiento y desarrollo de estructuras reproductivas.

Teniendo como base la importancia que tiene el B en la etapa reproductiva y productiva en especies frutales, sumado al hecho que existe poca información acerca del efecto de la aplicación foliar de este elemento en plantas de gulupa y de la relación del micronutriente con el desarrollo fenológico en etapa demandante, el objetivo del presente trabajo fue

evaluar el desarrollo fenológico y porcentaje de cuajado de fruto bajo aplicación foliar de B.

2.2 Materiales y métodos

2.2.1 Material vegetal y condiciones de crecimiento

En el municipio de Pasca (Cundinamarca), en la vereda San Pablo en la finca Bellavista, ubicada a 4°18'45,52'' N y 74°19'58,13'' W a una altitud de 2.006 msnm se estableció el cultivo de gulupa (*Passiflora edulis* f. *edulis* Sims). Se sembraron 108 plántulas de gulupa de aproximadamente 20 cm de altura, obtenidas en un vivero comercial de Sutamarchán, Boyacá, con una densidad de siembra de 816 plantas/ha, a una distancia de 3,5 m entre surcos y 3,5 m entre plantas, en un área de 1.323 m². Se empleó un sistema de tutorado de espaldera sencilla a doble alambre, uno ubicado a 1,5 m y el otro a 2 m del nivel del suelo. Para dar bioarquitectura a la planta, después de establecidas las plántulas, se realizó la selección de un tallo principal, seleccionando el más vigoroso y en adecuadas condiciones fitosanitarias; al momento que este alcanzó la altura del alambre de 2 m se realizó un despunte para romper la dominancia apical y así activar el crecimiento lateral, dejando dos ramas laterales, posteriormente cuando estas ramas alcanzaran una longitud de aprox. 1,75 m se realizó una poda para estimular la formación de ramas secundarias o ramas productivas donde estaban ubicados los botones florales y flores que daría origen a la producción de frutos. Para el segundo ciclo productivo, posterior a la cosecha de frutos de cada rama productiva, se realizó la poda sobre cada rama dejando dos yemas.

Se instalaron estaciones meteorológicas (Coltein Ltda, Bogotá, Colombia) con dataloggers (Coltein Ltda., Bogotá y Hobo U12-006, Onset Computer Corporation, Bourne, Massachusetts, USA) para el registro de temperatura (sensores THR-102, USA), humedad relativa y radiación fotosintéticamente activa (PAR); sensores LI 190 B, LI-COR Inc. Lincoln, Nebraska, USA). Las estaciones registraron datos cada 15 min. Las características climáticas presentadas durante el primer ciclo productivo fueron: temperatura media de 18,38°C, humedad relativa 85,03%, radiación fotosintéticamente activa de 365,21 μmol de fotones $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y DVP de 0,60 kPa. Para el segundo ciclo productivo se presentó una

temperatura media de 18.09°C, humedad relativa 79,95%, radiación fotosintéticamente activa de 382,22 μmol de fotones $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y DVP de 0,74 kPa.

El manejo del cultivo estuvo orientado por los ingenieros agrónomos del macroproyecto en el cual está vinculado esta investigación, la información del manejo fitosanitario e insectos plaga al igual que la fertilización es mostrado en el capítulo 1 de esta investigación.

2.2.3 Tratamientos foliares con boro

Los tratamientos con B se muestran en la tabla 1-1, distribuidos en cuatro aplicaciones, las cuales se realizaron con una frecuencia de 8 días. El inicio de la aplicación del tratamiento fue cuando la mayoría de las ramas terciaras presentaran emergencia de botones florales, con un tamaño de botón entre 0.5 cm de ancho y 1cm de largo. Para el primer ciclo productivo las aplicaciones iniciaron a los 178 días después de trasplante (ddt) y para el segundo ciclo se realizó después de la poda de producción (aprox 390 ddt).

2.2.4 Desarrollo de ramas productivas

Para la evaluación del desarrollo de ramas productivas en el primer ciclo productivo se marcaron cuatro ramas de 4cm de longitud, cuatro ramas por planta, cuatro plantas por tratamiento. Las mediciones iniciaron en el momento en que se aplicó el primer tratamiento foliar. Se registró con frecuencia semanal la longitud de ramas y el número de entrenudos de cada rama hasta que alcanzaran una longitud final de 115 cm para el primer ciclo productivo y de 130 cm para el segundo ciclo productivo, estas longitudes corresponden al momento en el cual la rama está lista para ser podada después del descargue de frutos. Para el segundo ciclo productivo, después de ser podadas las ramas productivas, dejando dos yemas, se marcaron la misma cantidad de ramas para cada tratamiento, y el seguimiento se hizo semanal.

2.2.5 Desarrollo del botón floral

Se realizó sólo para el primer ciclo productivo, para ello, un día previo al inicio de la aplicación de los tratamientos foliares para el primer ciclo productivo se seleccionaron para cada tratamiento tres ramas productivas por planta y por cada rama se marcaron cuatro

botones florales de aproximadamente 0,5 cm de longitud, para un total de 48 botones florales por tratamiento. Se registró semanalmente con un calibrador digital (*Fisher Scientific*, 0-150 mm) el ancho y largo del botón floral hasta antes de la flor.

2.2.6 Cuajado de fruto

En cada ciclo productivo se seleccionaron tres ramas productivas por planta, dentro de estas se marcaron cuatro botones florales de aproximadamente 0,5 cm de largo, se tomaron 3 plantas por tratamiento, para un total de 48 botones por tratamiento, después de marcados los botones se inició con la aplicación de cada uno de los tratamientos. Semanalmente se monitoreaba la aparición de fruto cuajado, siguiendo la escala BBCH (BBCH 69) en donde el cuajado del fruto ocurre a los 30 días después de la aparición del botón floral (dato no mostrado). El porcentaje de cuajado de fruto se determinó para cada tratamiento como la relación entre el número de frutos formados y el número de botones marcados.

2.2.7 Desarrollo del fruto

La aplicación de cada tratamiento foliar con boro para cada ciclo productivo se realizó al momento del cuajado del fruto. Para evaluar el desarrollo de fruto se marcaron por planta nueve frutos recién cuajados, de aproximadamente 1,5 cm de longitud. Los frutos marcados se ubicaban en ramas productivas. Se tomaron tres plantas para cada tratamiento, para un total de 27 frutos por tratamiento, la medición se realizó con un calibrador digital (*Fisher Scientific*, 0-150mm). En cada fruto marcado se registró el diámetro ecuatorial con una frecuencia semanal hasta que los frutos llegaron a la madurez fisiológica para el primer ciclo productivo, y para el segundo ciclo la evaluación se realizó hasta madurez comercial, la diferencia en el tiempo de evaluación se debe a problemas fitosanitarios presentados en el primer ciclo productivo.

2.2.8 Emisión de botones florales y frutos

En el segundo ciclo productivo se seleccionaron cuatro ramas productivas por planta, tres plantas por tratamiento. Después de la primera aplicación del tratamiento foliar con B, cada ocho días se realizó el conteo de cada botón floral emergido y de cada fruto formado sobre

la rama productiva marcada. Posterior a los 57 ddt, el conteo de emisión de estos órganos se realizó cada 15-20 días.

2.2.9 Análisis estadístico

Para todas las variables se validaron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas de acuerdo a las pruebas estadísticas de Kolmogorov-Smirnov (Normalidad) y Levene (Homogeneidad de varianzas). Para el análisis de los datos se utilizó el diseño completamente aleatorio con submuestreo, 4 tratamientos (T0: 0 kg ha⁻¹; T50: 0,3 kg ha⁻¹; T100: 0,6 kg ha⁻¹ y T150: 0,9 kg ha⁻¹), 3 repeticiones y 10 submuestras. Para las curvas de crecimiento se ajustó el modelo matemático de Gompertz de 3 parámetros (a, b y c) con el software estadístico SPSS v.20.0 (IBM Corp. 2011). La parametrización de este modelo se realizó según lo indicado por Winsor (1932). Se validaron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas de acuerdo a las pruebas estadísticas de Kolmogorov-Smirnov (Normalidad: N>50) y Levene (Homogeneidad de varianzas). Para el análisis de las variables que no cumplieron los anteriores supuestos, se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis ($P \leq 0,05$); mientras que para las demás variables, se realizaron análisis de varianza (ANOVA) de una vía y pruebas de comparación de medias de Tukey ($P \leq 0,05$) para determinar diferencias entre tratamientos; además para determinar diferencias entre los ciclos de cultivo se utilizó la prueba de T-Student ($P \leq 0,05$). Todo lo anterior se realizó con el software SAS 9,2 (Cary, NC: SAS Institute Inc., 2008). Las gráficas se realizaron con el software SigmaPlot versión 11.0 (SigmaPlot, 2008).

2.3 Resultados

2.3.1 Desarrollo de ramas productivas

La elongación de ramas terciarias en el primer ciclo productivo presentó el mismo comportamiento para todos los tratamientos, sin diferencias estadísticamente significativas ($P > 0,05$) entre tratamientos; sin embargo, se observó a partir de los 80 ddt en el T50 un aumento en el crecimiento con respecto de los otros tratamientos (Fig. 2-1 A). El T50

alcanzó la longitud máxima de las ramas (115,72 cm) a los 94 ddt, para este tiempo los otros tratamientos no alcanzaron la longitud máxima de las ramas secundarias, el T0 desarrolló una longitud final de 89,94 cm, mientras el T100 presentó una longitud final de 111,67 cm y el T150 una longitud de 86,83cm, indicando que el T50 requiere menos tiempo para alcanzar el máximo de longitud. En el segundo ciclo productivo no se presentaron diferencias estadísticamente significativas ($P \geq 0,05$) en los primeros 28 ddt, a partir de este momento el T50 registró una aceleración en la elongación de ramas hasta los 85 ddt con respecto a los otros tratamientos, siendo los tratamientos T50 y T100 los que alcanzaron la longitud máxima 130,7 cm y 129,12 cm respectivamente, aproximadamente a los 119 ddt (Fig. 2-1 B). Los restantes tratamientos presentaron una elongación de ramas más lenta, siendo más marcado para el T150, que alcanzó la longitud máxima (129,87 cm) a los 143 ddt, así mismo el T0 presentó la longitud máxima (130,5 cm) a los 143 ddt (Fig. 2-1 B). La longitud de ramas secundarias para el primer ciclo productivo presentó un buen ajuste para el modelo de Gompertz, el modelo de crecimiento para este ciclo indica que las tasas de crecimiento son de 0,96, 1,23, 1,19 y 0,92 cm día⁻¹ para los tratamientos T0, T50, T100 y T150, respectivamente (Tabla 2-1). En cuanto al segundo ciclo productivo, la longitud de ramas también presentó buen ajuste para el modelo de Gompertz, indicando que las tasas de crecimiento son de 0,91, 1,09, 1,08 y 0,90 cm día⁻¹ para los tratamientos T0, T50, T100 y T150, respectivamente (Tabla 2-1)

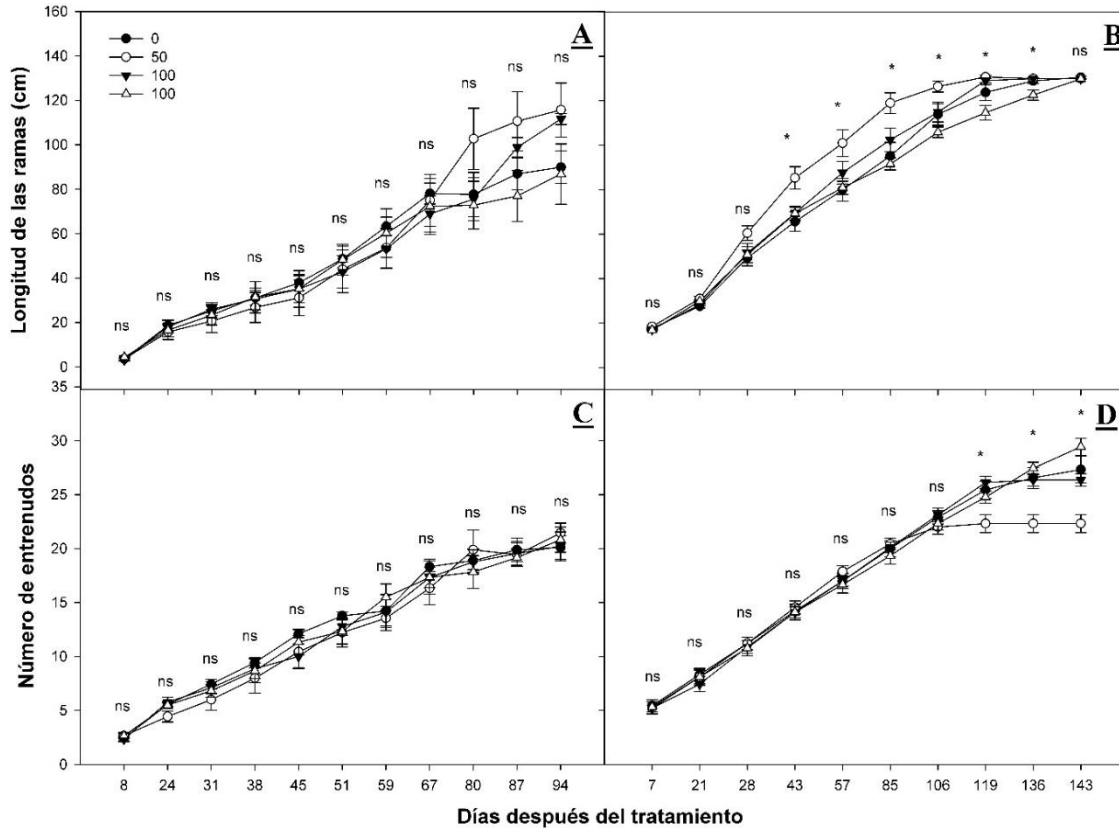


Fig. 2-1. Desarrollo de ramas en plantas de gulupa bajo diferentes dosis foliares de B. Longitud de ramas (primer ciclo **A** y segundo ciclo **B**), Número de entrenudos (primer ciclo **C** y segundo ciclo **D**). *indican diferencias significativas entre dosis de B de acuerdo con la prueba paramétrica *Tukey* p -valor $\leq 0,05$, ns indica sin diferencia estadísticamente significativa. Las barras verticales corresponden al error estándar.

En el primer ciclo productivo, al igual que para el desarrollo de ramas, para el número de entrenudos no se presentaron diferencias estadísticamente significativas ($P \geq 0,05$); sin embargo, se resalta que el T50 desarrolló el mayor número de entrenudos (21,44), mientras el T150 presentó el menor número de entrenudos (20,11) (Fig 2-1 C). Así mismo, en el segundo ciclo productivo no se presentaron diferencias estadísticamente significativas ($P \geq 0,05$) hasta los 106 ddt, después de este tiempo el T150 a los 143 ddt, alcanzó el mayor número de entrenudos (29,44), seguido por el T0 y T100 con un número de entrenudos de 27,33 y 26,37 respectivamente, mientras para el T50 se observó el menor número de entrenudos (22,33) (Fig. 2-1 D).

Tabla 2-1. Estimación de los parámetros del modelo Gompertz para la variable crecimiento de las ramas secundarias en plantas de gulupa sometidas a diferentes dosis de aplicación foliar de B, en dos ciclos de crecimiento.

Parámetro	Primer Ciclo				Segundo Ciclo			
	Dosis de B (kg ha ⁻¹)							
	0	0,3	0,6	0,9	0	0,3	0,6	0,9
a = asíntota	93,382 ± 5,792	143,490 ± 27,666	188,632 ± 74,814	86,278 ± 9,302	132,234 ± 3,386	128,528 ± 1,686	128,401 ± 2,642	124,356 ± 3,101
B	0,065 ± 0,010	0,056 ± 0,014	0,036 ± 0,008	0,066 ± 0,019	0,036 ± 0,003	0,064 ± 0,005	0,044 ± 0,004	0,037 ± 0,003
C	48,323 ± 2,951	65,856 ± 9,007	85,298 ± 22,143	47,297 ± 5,135	48,779 ± 2,896	3,883 ± 1,098	42,341 ± 1,917	44,326 ± 2,405
R²	0.779	0.669	0.772	0.620	0.918	0.942	0.930	0.932
Tasa de crecimiento (cm día⁻¹)	0,96	1,23	1,19	0,92	0,96	1,09	1,08	0,90
Ecuación	Longitud de ramas (cm) = $a/(1+\exp(-b*(DDT-c)))$							
	<i>DDT: Días después del tratamiento</i>							
	<i>R²: Coeficiente de determinación.</i>							

El número de entrenudos para el primer ciclo productivo presentó un buen ajuste para el modelo de Gompertz. El modelo de desarrollo de entrenudos para este ciclo indica que las tasas de crecimiento son de 0,21, 0,22, 0,21 y 0,22 entrenudos/día para los tratamientos T0, T50, T100 y T150, respectivamente (Tabla 2-2). En el segundo ciclo productivo el modelo para el desarrollo de entrenudos se ajustó al modelo de Gompertz, indicando que las tasas de desarrollo son de 0,19, 0,15, 0,18 y 0,20 entrenudos/día para los tratamientos T0, T50, T100 y T150, respectivamente (Tabla 2-2).

Tabla 2-2. Estimación de los parámetros del modelo Gompertz para la variable número de entrenudos de plantas de gulupa sometidas a diferentes dosis de aplicación foliar de B, en dos ciclos de crecimiento.

Parámetro	Primer ciclo				Segundo ciclo			
	0	50	100	150	0	50	100	150
a = asíntota	21,050 ± 1,139	23,387 ± 2,963	21,888 ± 1,598	21,279 ± 2,077	28,414 ± 1,091	22,374 ± 0,364	27,303 ± 0,676	33,226 ± 2,309
b	0,059 ± 0,009	0,052 ± 0,013	0,053 ± 0,009	0,056 ± 0,014	0,029 ± 0,003	0,050 ± 0,004	0,033 ± 0,003	0,022 ± 0,003
C	41,214 ± 2,752	50,565 ± 6,709	45,600 ± 3,387	43,613 ± 5,043	47,624 ± 3,966	30,248 ± 1,478	45,009 ± 2,435	65,459 ± 8,036
R²	0,91	0,83	0,9	0,87	0,9	0,9	0,94	0,91
Tasa entrenudos/día	0,21	0,22	0,21	0,22	0,91	0,15	0,18	0,20
Ecuación	Número entrenudos = $a/(1+\exp(-b*(DDT-c)))$							

2.3.2 Desarrollo de botones florales

En el desarrollo de botones florales el ancho de botón floral mostró diferencias estadísticamente significativas ($P \leq 0,05$) en los primeros 31 ddt. Se observó que antes de los 24 ddt el ancho de botón floral es similar para todos los tratamientos; sin embargo, a partir de este momento se resalta un desarrollo acelerado excepto para el T150 (Fig. 2-2 A). A los 38 ddt se presentó para todos los tratamientos el máximo ancho de botón floral, siendo el T100 el que mostró el mayor valor (30,0 mm) y el 150 el menor valor (24,0 mm). Este mismo comportamiento se presentó para el largo de botones florales, observando diferencias estadísticamente significativas ($P \leq 0,05$), resaltando que a partir del día 24 ddt se observó un mayor desarrollo para el T50 y T100 con respecto a los otros tratamientos; para el día 38 ddt el T100 presentó la mayor longitud del botón (28,50 mm), seguido por el T150 (26,00 mm), T150 (22,00 mm) y T0 (19,63 mm) (Fig. 2-2 B).

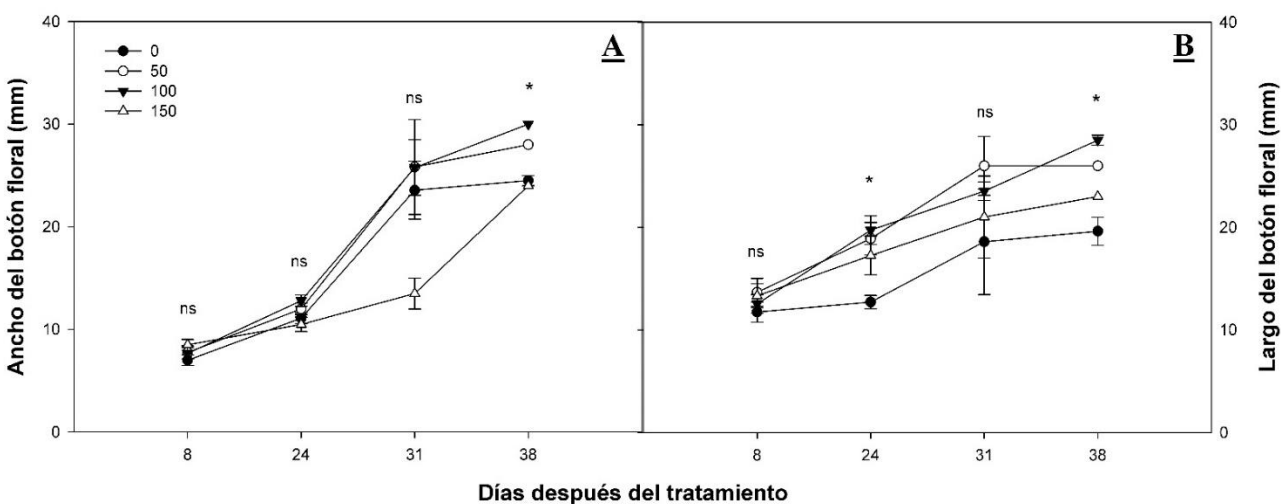


Fig. 2-2. Desarrollo de botones florales de plantas de gulupa bajo diferentes dosis foliares de B. Ancho del botón floral (A) y largo del botón floral (B). * indican diferencias significativas entre dosis de B de acuerdo con la prueba paramétrica *Tukey* p -valor $\leq 0,05$, ns indica sin diferencia estadística. Las barras verticales indican el error estándar

2.3.3 Cuajado de fruto

Plantas de gulupa bajo los diferentes tratamientos foliares con B mostraron diferencias estadísticamente significativas ($P \leq 0,05$) en el cuajado de fruto. Se presentó mayor porcentaje de cuajado de fruto en el primer ciclo productivo con el T100 (85,19%), seguido por T50 (81,48%); los tratamientos T0 y T150 presentaron igual porcentaje de cuajado (62,96%) (Fig. 2-3A). En general, el T100 registró un aumento del 35,39% en el cuajado del fruto respecto a T0 y T150.

En el segundo ciclo productivo, a diferencia del primer ciclo, el T50 fue el que presentó el mayor porcentaje de cuajado de fruto (90,0%); para este segundo ciclo, el T100 mostró un porcentaje de cuajado de 73,3%, el T0 de 63,3% y T150 del 50% (Fig. 2-3 B). En general, plantas de gulupa con la aplicación del T150 en el segundo ciclo productivo, presentan los menores porcentajes de cuajado de fruto, mientras que con el T50 se presentó el valor más alto del porcentaje de cuajado.

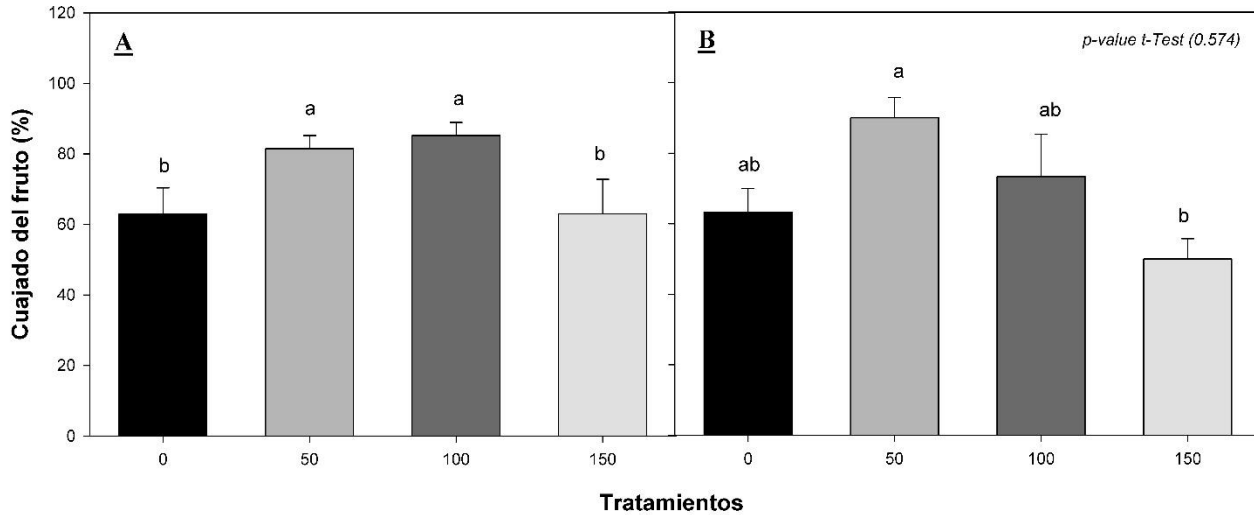


Fig. 2-3. Cuajado de frutos en plantas de gulupa bajo diferentes dosis foliares de B (primer ciclo **A** y segundo ciclo **B**), Letras diferentes indican diferencias significativas ($\alpha=0,05$) entre dosis de B de acuerdo con la prueba paramétrica *Tukey*; *p*-valor de la prueba de *t* de *student* ≤ 0.05 indica diferencias entre los dos ciclos de producción. Las barras verticales corresponden al error estándar.

2.3.3 Desarrollo de frutos

En el primer ciclo productivo se observó que el diámetro ecuatorial de frutos de gulupa bajo los tratamientos foliares con B no presentaron diferencias estadísticamente significativas hasta los 51 ddt ($P \leq 0,05$); sin embargo, se destaca que a partir de los 24 ddt el diámetro del fruto es mayor para el T50, no obstante, su crecimiento es más lento a partir de los 45 ddt y este comportamiento se presentó para los tratamientos restantes. A partir de los 59 ddt los frutos del T100 desarrollaron el mayor diámetro ecuatorial alcanzando valores de 55,63 mm (Fig. 2-4 A).

A diferencia del primer ciclo productivo, en el segundo ciclo se presentó desde el inicio diferencias estadísticamente significativas ($P \leq 0,05$), resaltando que frutos bajo el T50 obtuvieron un mayor diámetro ecuatorial desde los 21 ddt alcanzando a los 136 ddt el máximo diámetro (55,68 mm); en contraste, para los restantes tratamientos evaluados, el diámetro de fruto se alcanzó a los 143 ddt, obteniendo valores de 51,82, 53,75 y 52,92 mm para los tratamientos T0, T100 y T150, respectivamente (Fig 2-4 B).

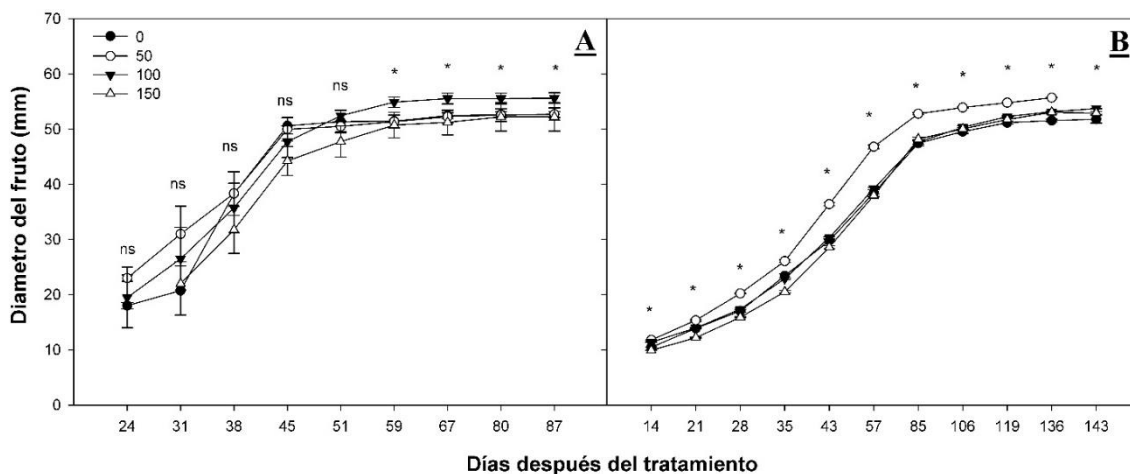


Fig. 2-4. Desarrollo de frutos en plantas de gulupa bajo diferentes dosis foliares de B. Diámetro de frutos (primer ciclo **A** y segundo ciclo **B**). * indican diferencias significativas entre dosis de B de acuerdo con la prueba paramétrica Tukey p -valor $\leq 0,05$, ns indica sin diferencia estadísticamente. Las barras verticales indican el error estándar

El desarrollo del fruto para el primer ciclo productivo se ajustó al modelo Gompertz, indicando que T100 obtuvo la mayor tasa de crecimiento ($0,63 \text{ mm dia}^{-1}$), los demás tratamientos presentaron una tasa de crecimiento similar ($0,60 \text{ mm dia}^{-1}$) (Tabla 2-4). En cuanto al segundo ciclo el desarrollo de frutos de gulupa se ajustó al modelo de crecimiento de Gompertz, indicando que la mayor tasa de crecimiento se presentó para los frutos bajo T50 con una tasa de crecimiento de $0,38 \text{ mm dia}^{-1}$, para lo restantes tratamientos la tasa de crecimiento osciló entre $0,36$ y $0,37 \text{ mm dia}^{-1}$ (Tabla 2-3). En cuanto a los ciclos productivos se observó que el mayor diámetro de fruto se obtuvo en plantas bajo el tratamiento T50 en el segundo ciclo; sin embargo, el aumento en el diámetro solo presentó un incremento del $0,089\%$ de un ciclo a otro para el T50. El tipo de crecimiento observado es sigmoide simple.

Tabla 2-3. Estimación de los parámetros del modelo Gompertz para la variable diámetro del fruto de plantas de gulupa sometidas a diferentes dosis de aplicación foliar de B, en dos ciclos de crecimiento.

Parámetro	Primer Ciclo				Segundo Ciclo			
	Dosis de B (kg ha ⁻¹)							
	0	0,3	0,6	0,9	0	0,3	0,6	0,9
a = asíntota	52,863 ± 1,172	53,032 ± 1,244	56,360 ± 1,368	52,169 ± 1,487	51,2380 ± 0,227	54,818 ± 0,153	52,7001 ± 0,194	52,4044 ± 0,190
b	0,161 ± 0,026	0,023 ± 0,023	0,123 ± 0,021	0,46 ± 0,035	0,0573 ± 0,001	0,0708 ± 0,001	0,0541 ± 0,001	0,0574 ± 0,001
c	32.323 ± 0,962	28,014 ± 1,443	32,186 ± 1,239	34,316 ± 1,528	38,2793 ± 0,342	34,5240 ± 0,182	39,1345 ± 0,299	41,1908 ± 0,291
R²	0,674	0,556	0,64	0,731	0,989	0,9015	0,99	0,994
Tasa de crecimiento (mm día⁻¹)	0,605	0,606	0,639	0,600	0,362	0,389	0,375	0,370
Ecuación	Diámetro del fruto (mm) = $a/(1+\exp(-b*(DDT-c)))$							
<i>DDT: Días después del tratamiento</i>								
<i>R²: Coeficiente de determinación.</i>								

2.3.4 Emisión de botones florales y formación de frutos

En el segundo ciclo productivo se observó que el T50 obtuvo la mayor tasa de emisión de botones con 1,98 botones por rama y semana, presentando la mayor tasa de emisión de botones a los 7 y 21 ddt (3,58 y 3,56 botones por rama y semana, respectivamente); sin embargo, a partir de los 106 ddt la tasa de emisión de botones florales disminuye obteniendo al final del ciclo 0,33 botones por rama y semana (Fig. 2-5).

El tratamiento que menor tasa de emisión de botones presentó fue el T0 con 0,95 botones por rama y semana, mostrando la mayor emisión de botones a los 21 y 28 ddt (1,67 y 2,87 botones, respectivamente). En general, para todos los tratamientos se observó que en los primeros 28 ddt se presenta la mayor emisión de botones florales por rama, tiempo en el cual se realizó la aplicación de los tratamientos foliares con B, y a medida que pasa el tiempo la emisión de botones florales disminuye.

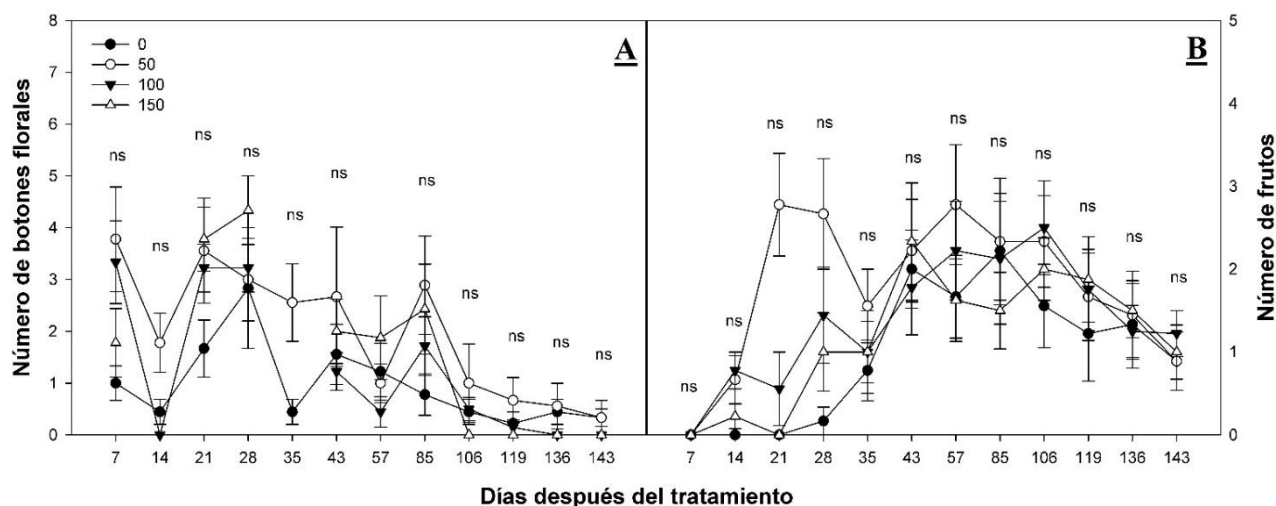


Fig. 2-5. Emisión de órganos reproductivos y productivos en plantas de gulupa bajo la aplicación de dosis foliares de B. número de botones florales (A), número de frutos (B). * indican diferencias significativas entre dosis de B de acuerdo con la prueba paramétrica Tukey p -valor $\leq 0,05$, ns indica sin diferencia estadísticamente Las barras verticales indican el error estándar

En cuanto a formación de frutos, se observó que el T50 presentó la mayor formación de frutos con 1,98 frutos por rama y semana, mostrando la mayor emisión de frutos a los 21 y 28 ddt (2,78 y 2,67 frutos, respectivamente) (Fig. 2-5). El T0 presentó la menor emisión de frutos semanales (0,98 frutos), seguido por el T100 y T150 (1,51 y 1,28 frutos por rama, respectivamente).

2.4 Discusión

En este estudio se encontró que la aplicación foliar de B en plantas de gulupa en etapa de floración presentó un efecto positivo en el crecimiento de ramas terciarias a una dosis de 0,3 Kg ha⁻¹ correspondiente al T50 para los dos ciclos evaluados; sin embargo, no se observó un patrón similar en el número de entrenudos, lo que sugiere que la emisión de nudos es una característica intrínseca de la planta y que no se ve afectada por los tratamientos de B. Aunque no ha sido bien documentado el efecto del B en gulupa o en otras pasifloras durante la etapa de reproducción, se considera que para *P. edulis f. flavicarpa* para obtener ramas primarias o “mudas” de calidad es importante un adecuado estado nutricional (Prado *et al.*, 2006). Para dicha especie se ha identificado que dentro de los micronutrientes, el B y el Zn son los más limitantes para la formación de ramas primarias (Prado *et al.*, 2006); aunque para esta pasiflora no ha sido bien documentado el papel de B en ramas productivas, se considera que la deficiencia de B causa en etapa vegetativa el colapso de los tejidos de los vasos conductores, limitando el transporte de fotoasimilados y por tanto se genera una reducción en el transporte de nutrientes afectando el crecimiento de la planta (Bariya *et al.*, 2014).

Añez y España (2011) encontraron que para *P. edulis f. flavicarpa* en estado de plántula la aplicación de B mostró un incremento de la longitud de la rama primaria en un 20,27% con respecto a plántulas sin aplicación de B, estos mismos autores encontraron que la aplicación de B en plántulas aunque presentaron un efecto positivo en la longitud de rama primaria no presentan efectos en el número de nudos, concordando con lo encontrado en la presente investigación. Así mismo, Prado *et al.* (2006) encontraron que la aplicación de B en *P. edulis f. flavicarpa* para la producción de ramas primarias tiene un efecto positivo en la longitud y diámetro de ramas, obteniendo un incremento del 62% en la producción de materia seca de la parte aérea de las plantas, favoreciendo también el desarrollo radicular de la planta.

En este sentido, el B participa como un estabilizador de la red de pectinas de la pared celular, por tanto plantas bajo deficiencia de B presentan una reducción en la expansión

de la pared celular (Dell y Huang, 1997 y Kocábek *et al.*, 2009; Tang *et al.*, 2011) y por consiguiente se observa una reducción en el crecimiento de las plantas, siendo así importante un adecuado suministro de B teniendo en cuenta que más del 90% del B presente en las plantas está en las paredes celulares (Mei *et al.*, 2016). En *Citrus sinensis*, Liu *et al.* (2014) mostraron que bajo deficiencia de B se disminuye el contenido y el ensamblaje de los polímeros componentes de la pared celular, observando que el contenido de pectinas se reduce y, por tanto, se presenta una limitación en el crecimiento de los órganos de esta especie; resultados similares han sido reportados por Pan *et al.* (2012). Adicionalmente, para la especie frutal *Poncirus trifoliata* bajo condiciones de deficiencia de B se observó menor diámetro interno de los vasos conductores, lo que puede causar la limitación en el transporte de nutrientes minerales, lo cual limita el suministro de nutrientes y afecta el crecimiento de las plántulas (Mei *et al.*, 2016).

En concordancia con lo anterior, se ha documentado que el B no parece estar directamente relacionado con la biosíntesis de pared celular, aunque puede influir en la incorporación de pectinas, proteínas, y o precursores en la expansión de la pared celular, por tanto se ha considerado que la principal función del B en las plantas es de carácter estructural (Marschner, 2012; Cong *et al.*, 2015). Ahora está bien establecido que el B desempeña un papel estructural importante como componente del complejo Rhamnogalacturonano II (RGII) (Tanaka y Fujiwara, 2008), y se debe a la formación de enlaces entre los complejos ácido bórico/borato con moléculas de ramnogalacturonano II (B-RG-II) conformando una red péctica estable tridimensional, adicionalmente se ha identificado que los restos de azúcar tales como manosa, apiosa o galactosa, así como otros ligandos hidroxilados tales como serina o treonina, pueden formar complejos similares a ésteres con boro y participar en la estabilidad de la pared celular (Redondo-Nieto, 2007).

En este contexto, Demiray y Dereboylu. (2013) han documentado que tanto la deficiencia como el exceso de B también afectan las células de los vasos conductores, se ha demostrado que las células traqueidas se lignifican en condiciones de estrés por B, lo cual es debido al papel del B en los fenoles (precursor de la lignina) limitando el crecimiento de diversos órganos. Adicionalmente, recientemente se ha reportado que la deficiencia de B está asociada en la expresión de varios genes que codifican para las enzimas de la pared celular (downregulated) (Camacho *et al.*, 2008), por lo tanto, los cambios en la estructura

de los polisacáridos de pared celular bajo deficiencia de B pueden ser debidos a cambios en el sistema enzimático de la pared celular.

El desarrollo de botón floral bajo la aplicación del T100 mostró las mejores características de crecimiento frente a los otros tratamientos foliares con B, así mismo este tratamiento para el primer ciclo productivo mostró los mejores valores para cuajado de fruto, mientras que el T50 en el segundo ciclo productivo presentó el mejor porcentaje de cuajado, indicando que la aplicación de B mejora el porcentaje de cuajado frente a la no aplicación. Así mismo, la aplicación de B foliar mejora la emisión de botones florales y frutos principalmente en los primeros los 28ddt, siendo el T50 el que mejor presentó los mejores valores. De acuerdo con varios autores, la deficiencia de B ha sido investigada ampliamente en etapa de floración y resulta para muchas especies vegetales en inhibición o pobre desarrollo floral, baja producción y viabilidad del polen, caída de flores y frutos, disminución del cuajado de frutos y en la formación de semillas (Talaie y Taheri, 2001; Wojcik y Wojcik, 2003; Marschner, 2012; Tanaka y Fijiwara, 2008; Takano *et al.*, 2008). Se ha documentado que los anteriores síntomas pueden ser observados en ausencia de síntomas vegetativos o reducción del crecimiento, lo que indica que el requerimiento de B en los tejidos reproductivos es mayor que en los vegetativos o que la liberación del B a los tejidos reproductivos es limitada bajo condiciones de deficiencias de este micronutriente.

El incremento en el porcentaje de cuajado de fruto de gulupa, observado en este estudio, indica que la aplicación exógena de B favorece la fructificación lo que concuerda con datos reportados para *P. edulis f. falvicarpa*. Añez y España (2011) indicaron la aplicación de B incrementa la emisión de botones florales, lo cual se considera un factor positivo para la formación de frutos. Así mismo, Freitas *et al.* (2006) encontraron que en plantas de *P. edulis f. falvicarpa* bajo deficiencia de B se reduce en un 30% el número de frutos por planta sin afectar el diámetro de frutos y el número de semillas por fruto. Resultados similares han sido reportados para otras especies frutales como *Malus domestica* (Wojcik *et al.*, 2008), *Pyrus communis* (Wojcik y Wojcik, 2003; Shalan, 2013), *Prunus persica* (Yadav *et al.*, 2013), *Persea americana* (Boldingh *et al.*, 2016) *Vitis vinifera* (Nikkhah *et al.*, 2013), entre otras.

En la presente investigación se observó que el mayor porcentaje de cuajado de fruto se obtuvo con la aplicación de B en etapa de formación de botón floral, con los tratamientos T100 y T150, para los dos ciclos productivos respectivamente. Resultados similares han sido reportados por Shalan, (2013) para *Pyrus communis*, donde la aplicación foliar de B en la etapa de formación de botón floral incrementó en un 56,19 % el cuajado de fruto para el primer ciclo productivo y en el segundo ciclo se presentó un incremento de 70,58 %. Para *Solanum melongena* la aplicación foliar de B incrementó en un 24,91 y 26,61% el cuajado del fruto para el primer y segundo ciclo, respectivamente (El-Gawad y Osman, 2014). Para *Ribes grossularia* la aplicación de B aumentó en 67,30% el cuajado del fruto en el primer ciclo productivo, 81,63% en el segundo y 106% en el tercer ciclo, cuando la aplicación se realizó en botones florales (Wójcik y Filipczak. 2015).

En la presente investigación, en el segundo ciclo de producción se presentó la mayor concentración de B en hojas y así mismo el mejor tamaño de botones florales y mayor porcentaje de cuajado de frutos fue principalmente para el T50. En este sentido, Shalan, (2013) encontraron una correlación positiva entre la concentración de B en flores y hojas con el número de flores y porcentaje de cuajado de fruto, reafirmando que el B desempeña un papel importante en la germinación del polen y en el crecimiento del tubo polínico. Por el contrario, los bajos niveles de boro en las flores y hojas se presentan en plantas con un bajo número de flores y menor porcentaje de cuajado de frutos.

Se ha documentado que la aplicación de B sobre los tejidos reproductivos mejora la producción de flores y cuajado de fruto debido a que estos órganos son altamente demandantes de B, puesto que los tejidos reproductivos presentan altas tasa de crecimiento y las paredes celulares de dichos tejidos se consideran ricas en pectina (Marschner, 2012; El-Gawad *et al.*, 2014). Por lo tanto, es probable que las aplicaciones foliares B sean especialmente valiosas en el período de desarrollo de las flores, y más aún en especies donde la movilidad del B solo se restringe al floema, por consiguiente el desarrollo de las flores depende de un suministro continuo de B vía floema por corriente transpiratoria (Perica *et al.*, 2001); en este sentido, bajas tasas transpiratorias como se documentaron para el T0, dependen del B transportado por el xilema y están más expuestas al riesgo de deficiencia de B cuando el flujo de agua del xilema es limitado por la transpiración (Wells y Conner. 2008).

Por otra parte, algunos estudios han mostrado que el estado de microesporogénesis es más sensible bajo deficiencia de B durante el estado temprano del desarrollo de anteras; en este sentido, la deficiencia de B restringe la elongación de anteras al disminuir la división celular, lo cual a su vez reduce la capacidad de producir polen y reduce la expansión de la pared celular en el polen (Pandey y gupta, 2013). Iwai *et al.* (2006) indican que la formación de enlaces entre los complejos ácido bórico/borato con moléculas de ramnogalacturonano II (B-RG-II) son importantes para el tubo polínico a través de la resistencia mecánica de la pared celular del tubo polínico, considerando que la reticulación mediada por B desempeña un papel importante en el crecimiento del tubo polínico. Adicionalmente, Wang *et al.* (2010) afirman que la deficiencia de B inhibe la gluconeogénesis debido a la regulación negativa de la enzima FPBasa (Fructose-1,6-bisphosphatase) y por tanto limita el suministro de carbohidratos, los cuales son indispensables teniendo en cuenta que en diversas angiospermas se ha demostrado que las reservas de carbohidratos son esenciales para el desarrollo floral desde el inicio de la floración hasta la maduración de los órganos florales (Niewiadomski *et al.*, 2005, Boldingh *et al.*, 2016).

En el presente estudio se demostró que las menores tasas de A_N se presentaron en las plantas con aplicación del T0, lo que puede indicar menor cantidad de fotoasimilados provenientes de la fotosíntesis, y por tanto menor suministro de carbohidratos a los órganos más demandantes en etapa de floración y fructificación. En contexto, recientemente, investigaciones en *Arabidopsis thaliana* y *Oryza sativa* indican que la deficiencia de B está implicada en la expresión de genes de la familia OsBOR, los cuales desempeñan un papel importante en el transporte de B y la homeostasis de B en los órganos florales (Tanaka *et al.*, 2013), conllevando así la deficiencia de B a baja viabilidad del polen, esterilidad del mismo y disminución en la elongación del tubo polínico; sin embargo, estos resultados aún no han sido documentados para especies frutales.

En general, en especies frutales perennes la aplicación foliar de B aumenta el porcentaje de flores fértiles resultando en un incremento en el cuajado de frutos y así mismo un aumento en el número de frutos y en el tamaño de los mismos. En cuanto a tamaño de frutos de gulupa en la presente investigación, se encontró que el T100 y el T50 presentaron los mejores valores para el diámetro de fruto en el primer y segundo ciclo, respectivamente.

Resultados similares han sido observados para otras especies trepadoras como *Actinidia deliciosa* donde la aplicación de B aumenta en 8,27% el diámetro de los frutos (Sotomayor *et al.*, 2010), y en otras especies frutales tropicales como *Artocarpus heterophyllus* donde se registró un incremento del 29,83% en la longitud y un 38,88% en el diámetro del fruto (Halder *et al.*, 2008). Davies *et al.* (2003) indican que la aplicación foliar con B aumenta significativamente las características físicas de los frutos, tales como diámetro, longitud y peso de frutos, este efecto puede atribuirse a que el B incrementa la tasa de transporte de azúcares a los puntos vertederos y zonas de crecimiento y por tanto mejora el crecimiento de los frutos. Adicionalmente, se ha considerado que el B es absorbido rápidamente por las flores (Sarrwy *et al.*, 2012) y al ser aplicado foliarmente permite que sea disponible más rápidamente en etapas demandantes. En este sentido, las aplicaciones de B en estas etapas generan un efecto rápido sobre el desarrollo de botones y frutos. Así mismo, la aplicación de B favorece otros procesos metabólicos como el transporte de carbohidratos, evitando que se acumulen en las hojas y no sean transportados a órganos vertederos (Mengel *et al.*, 2001).

Por otra parte, el crecimiento de frutos de gulupa se ajustó al modelo Gompertz donde se observa un rápido crecimiento del fruto durante los primeros 45 ddt para el primer ciclo productivo, mientras que para el segundo ciclo se registra un rápido crecimiento en los primeros 43 ddt. Sin embargo, Flórez *et al.* (2012) reportan que frutos de gulupa presentan una curva de crecimiento sigmoideal con un acelerado crecimiento durante los primeros 15-25 días después de floración, indicando que la velocidad de crecimiento en etapa inicial de desarrollo de los frutos se debe a la expansión celular en la cual hay acumulación de fotoasimilados, agua y minerales; este patrón sigmoideal también es reportado por Schotsmans y Fischer (2011) para la misma especie.

Para el primer ciclo productivo el tiempo desde la aplicación de los tratamientos (cuajado de fruto) hasta la madurez fisiológica se presenta a los 87 días, mientras que en el segundo ciclo productivo este tiempo es mayor (106 días), lo anterior puede deberse a las condiciones climáticas presentadas en los dos ciclos productivos (Anexo C1y C2); resultados similares fueron reportados por Flórez *et al.* (2012) quienes indican que el punto de madurez fisiológica se alcanza entre 85 y 90 días después de antesis, y la maduración completa de los frutos ocurre entre 4 meses después de antesis.

2.5 Conclusiones

Las plantas de gulupa, sometidas a deficiencia de B, mostraron para ambos ciclos productivos no tener la mejor respuesta de crecimiento y desarrollo con respecto a los otros tratamientos evaluados. Se observó que para el primer y segundo ciclo productivo el T50 presentó la mayor longitud de ramas terciarias, el mejor porcentaje de cuajado de fruto y un adecuado diámetro de fruto. En cuanto a desarrollo de botón floral, emisión de botones y número de frutos, el T100, en el segundo ciclo productivo, registró los mejores resultados, y la deficiencia de B mostró los menores valores para las anteriores variables nombradas. En general, al igual que en la primera fase de esta investigación se considera que las mayores limitaciones se presentaron bajo deficiencia de B, y por el contrario las concentraciones de B en la solución foliar usadas en el T150 no mostraron un efecto negativo marcado sobre las variables evaluadas, sugiriendo que este tratamiento no representó una condición de exceso de este elemento.

3. Capítulo III: Características fisicoquímicas de frutos de gulupa bajo la aplicación foliar de boro en condiciones de campo

3.1 Introducción

La especie *Passiflora edulis f. edulis* Sims conocida nacionalmente como gulupa y a nivel internacional es considerada como un fruto exótico denominado purple passion fruit, es altamente apetecido por sus características organolépticas (Ocampo *et al.*, 2007). Es una especie originaria del sur de Brasil y fue ampliamente distribuida durante el siglo XIX a otros países de América del Sur, el Caribe, Asia, África, India y Australia (Nakasone y Paull, 1998). A nivel botánico se denomina como una especie semileñosa, perenne de hábito trepador debido a la presencia de zarcillos en las axilas foliares (Knight y Sauls, 2015). Los frutos son bayas redondas u ovaladas con un exocarpo firme, liso y brillante, inicialmente son de color verde claro, pero durante su maduración cambia a una tonalidad morada. Los frutos presentan un diámetro ecuatorial que oscila entre 51-55 mm, y con un peso en fresco promedio de 42 a 52 g (Pérez, 2013); al igual que otras especies de pasifloras en su interior contiene un alto número de semillas rodeadas de una pulpa de color naranja, dicha pulpa es usada para el consumo directo o en la preparación de jugos, néctares y postres (Orjuela-Baquero *et al.*, 2011).

La gulupa es muy apetecida por su aroma intenso y su sabor agridulce, presenta alto contenido de vitamina A, tiamina, riovflavina, niacina, calcio, fosforo y ácido ascórbico (Jiménez-Neira, 2006), adicionalmente se han identificado cerca de 25 compuestos volátiles que se presentan en mayor proporción durante la maduración y así mismo presentan altos contenidos de antocianinas (Jiménez *et al.*, 2011). Para esta especie se ha documentado que la calidad poscosecha varía en función de los factores ambientales en diferentes zonas de crecimiento de la planta (Flórez *et al.*, 2012); sin embargo, la calidad de los frutos también depende de las condiciones precosecha en que las plantas crecen, lo cual ha sido bien informado en frutos tropicales (Guerrero *et al.*, 2012). En gulupa no se ha identificado cuáles son los macro y micronutrientes que se extraen en mayor proporción

durante el desarrollo del cultivo, y por esto se ha atribuido su manejo de la fertilización con base en los requerimientos informados para *Passiflora edulis f. flavicarpa*, en la que el B está dentro de los que en mayor proporción son extraídos en la etapa de desarrollo de frutos (Haag *et al.*, 1973; Fernández *et al.*, 1977).

En contexto con lo anterior, ha sido bien documentado en algunas especies frutales tales como *Malus domestica* (Wojcik *et al.*, 2008; Lu *et al.*, 2013) y *Fragaria x ananassa* (Singh *et al.*, 2007; Kazemi, 2014), *Pyrus pyrifolia* (Khalaj *et al.*, 2017) que la aplicación foliar de B mejora la calidad poscosecha incrementando la firmeza de los frutos evitando así daños fitosanitarios de los mismos, aumenta el contenido de SST, ácidos orgánicos, pH e incrementa las características de color. Las anteriores características que adquieren los frutos sometidos a aplicaciones foliares de B están probablemente relacionados y fundamentadas con el papel que ejerce el B en la tasa de transporte de fotoasimilados a órganos vertederos lo cual está soportado con incrementos en A_N (Han *et al.*, 2009), adicionalmente la aplicación de B está asociado al incremento de azúcares y almidón en los frutos, mejorando así su calidad organoléptica (Wojcik, 2004), siendo el contenido de estos compuestos uno de los factores determinantes del estado de madurez de los frutos (Flórez, 2012).

Se considera que los efectos de la nutrición mineral sobre la calidad del fruto son variados y depende especialmente de la especie, variedad y condiciones agroclimáticas (Fischer, 2000). Sin embargo, son escasas las investigaciones sobre la caracterización fisicoquímica de frutos de gulupa, y los pocos estudios al respecto se han enfocado en la caracterización fisiológica y bioquímica del fruto (Orjuela-Baquero *et al.*, 2011; Jiménez *et al.*, 2011; Flórez, 2012; Franco, 2013), estados de madurez del fruto (Pinzón *et al.*, 2007), prácticas de cosecha (Guerrero y Hoyos-Carvajal, 2011) y efectos de empaques y temperaturas en calidad poscosecha (Pachón *et al.*, 2006; Díaz *et al.*, 2012), siendo estas investigaciones de gran importancia para mejorar la comercialización de la fruta. Sin embargo, es importante el conocimiento acerca de cómo la aplicación foliar de B afecta la calidad de los frutos, con el fin de aportar a las prácticas de fertilización orientadas a mejorar la calidad poscosecha de los frutos. Por tal razón, se planteó como objetivo determinar las propiedades fisicoquímicas de frutos de gulupa bajo la aplicación foliar de B.

3.2 Materiales y métodos

3.2.1 Localización de la investigación, material vegetal y aplicación de tratamiento foliar

En un cultivo de gulupa (*Passiflora edulis* f. *edulis* Sims) con 108 plantas a una distancia de siembra de 3,5 m entre surcos y 3,5 m entre plantas para un total de 816 plantas/ha, bajo un sistema de tutorado de espaldera sencilla a doble alambre. El cultivo se estableció en la vereda San Pablo en la finca Bellavista, ubicada a 4°18'45,52'' N y 74°19'58,13'' W a una altitud de 2.006 msnm. En etapa de floración se aplicó cuatro tratamientos foliares con boro (tabla 1-1) utilizando como fuente ácido bórico (H_3BO_3), por aspersión con un equipo de espalda Royal Condor ref CO-004®. La aplicación se realizó para dos ciclos productivos, el primero se inició a los 178 días después de trasplante (ddt) y el segundo ciclo se realizó después de la poda de producción (aprox. 390 ddt). Las aplicaciones se realizaron en el momento en que la planta presentara producción de botones florales. Los tratamientos se aplicaron con una distribución de 8 días, durante cuatro semanas. Se monitorearon variables climáticas (Estación meteorológica Coltein Ltda., Bogotá, Colombia) con dataloggers (Coltein Ltda, Bogota y Hobo U12-006, Onset Computer Corporation, Bourne, Massachusetts, USA). Las estaciones registraron datos cada 15 minutos. Las condiciones climáticas presentadas durante la cosecha de frutos en el primer ciclo corresponde al mes de mayo en el cual se presentó una temperatura media de 17,46°C, humedad relativa de 91,16%, radiación fotosintéticamente activa de 385,89 μ moles de fotones $m^{-2} s^{-1}$ y DPV de 0,38 kPa; para el segundo ciclo productivo los frutos se cosecharon en el mes de diciembre el cual presentó una temperatura media de 18,36°C, humedad relativa de 75,78%, radiación fotosintéticamente activa de 372,12 y DPV de 0,81 kPa.

3.2.2 Recolección del material vegetal

Para cada ciclo productivo después de la aplicación de los tratamientos, se colectaron 20 frutos por tratamiento en estado 4 de madurez (85-95% de color púrpura en la epidermis) (Pinzon *et al.*, 2007), caracterizado porque el fruto ya ha alcanzado su tamaño final y presenta un color morado brillante. Una vez colectados los frutos, se dispusieron en una nevera de icopor para mantenerlos a temperatura ambiente y fueron transportados

inmediatamente al Laboratorio de Fisiología y Bioquímica Vegetal del Departamento de Biología de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, para realizar las diferentes mediciones físicas y químicas.

3.2.3 Características físicas de los frutos

Empleando un calibrador digital (*Fisher Scientific*, 0-150 mm) se midió el espesor del exocarpo, el peso fresco fue registrado en una balanza analítica (*Mettler AB204*) y la firmeza fue medida con un penetrómetro manual de reloj de 0-13 kg con un puntal de 2 mm, se midió en tres puntos en la parte central de cada fruto.

La medición del color se realizó por medio un colorímetro (*Hunter Associates Laboratory, Mini Scan XE Plus, Inc., USA*), registrando coordenadas colorimétricas $L^*a^*b^*$ en tres puntos de la zona ecuatorial de cada fruto, posteriormente los datos fueron transformados al sistema $L^*C^*H^\circ$, recomendado por la Comisión Internacional de Iluminación (CIE), estimando las $L^*C^*H^\circ$ a partir de las siguientes ecuaciones (*Sui et al., 2016*):

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (\text{Ecuación 3-1})$$

$$H^\circ = \text{Arctan} \frac{b^*}{a^*} \quad (\text{Ecuación 3-2})$$

Donde, L^* es la luminosidad, C^* el croma o saturación del color y H° el tono correspondiente a un círculo de color donde los ángulos 0, 90, 180 y 270° indican los colores rojo, amarillo, verde y azul, respectivamente.

3.2.4 Características químicas de los frutos

Para la medición de los sólidos solubles totales (SST) se extrajo jugo de cada fruto tamizando la pulpa con un colador y con un gotero se agregaron dos gotas de jugo en el refractómetro digital (*Hanna Instruments, Woonsocket, USA*). Para la acidez total titulable (ATT) se tomaron 2 mm del jugo extraído y se aplicaron dos gotas de fenolftaleína como indicador, se registró el volumen de NaOH gastado en el cual se presentó el cambio de coloración del jugo, la acidez titulable se determinó como:

$$ATT (\% \text{ de ácido cítrico}) = \left(\frac{A*B*C}{D} \right) * 100 \text{ (Ecuación 3-3)}$$

Donde, *A*: Volumen (mL) de NaOH utilizado en la titulación; *B*: Normalidad del NaOH (0,1 N); *C*: Peso equivalente de ácido cítrico (0,064 g meq⁻¹) y *D*: Peso (g) de la muestra titulada.

La acidez fue expresada como % de ácido cítrico en 100 g de pulpa. La relación de madurez fue calculada como SST/ATT.

3.2.5 Análisis estadístico

Para el análisis de los datos se utilizó el diseño completamente aleatorio, 4 tratamientos (T0: 0 kg ha⁻¹; T50: 0,3 kg ha⁻¹; T100: 0,6 kg ha⁻¹ y T150: 0,9 kg ha⁻¹), y entre 5 y 20 repeticiones dependiendo de la variable. Se validaron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas de acuerdo a las pruebas estadísticas de Kolmogorov-Smirnov (Normalidad: N>50) y Levene (Homogeneidad de varianzas). Para el análisis de las variables que no cumplieron los anteriores supuestos, se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis (P≤ 0.05); mientras que para las demás variables, se realizaron análisis de varianza (ANOVA) de una vía y pruebas de comparación de medias de Tukey (P≤ 0,05) para determinar diferencias entre tratamientos; además para determinar diferencias entre los ciclos de cultivo se utilizó la prueba de T-Student (P≤ 0,05). Todo lo anterior se realizó con el software SAS 9,2 (Cary, NC: SAS Institute Inc., 2008). Las gráficas se realizaron con el software SigmaPlot versión 11.0 (SigmaPlot, 2008).

3.3 Resultados

3.3.1 Peso, firmeza y grosor de epidermis

Frutos de gulupa cosechados en estado 4 de madurez (madurez comercial) no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre ciclos productivos ($P \geq 0,05$). Para el primer ciclo productivo el T100 presentó los frutos con mayor peso (62,21 g), seguido por el T150, T50 y T0 (60,0, 60,36 y 57,46 g, respectivamente) (Fig.3-1 A). Para el segundo ciclo productivo el T50 mostró los mejores valores para peso de frutos (61,34 g), seguido por T100, T150 y T0 (59,73, 58,93 y 58,14 g, respectivamente) (Fig.3-1 B). En cuanto a la firmeza de frutos se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los ciclos evaluados ($P \text{ valor} \leq 0,05$). En el primer ciclo productivo se encontró que la firmeza de los frutos aumenta cuando se realiza la aplicación foliar de B con respecto al T0, siendo el T100 el que presentó la mayor firmeza de los frutos (10,19 Kgf), seguido por los tratamientos T150, T50 y T0 (8,68, 8,57 y 7,34 kgf, respectivamente) (Fig.3-2 A). Resultados similares se presentaron en el segundo ciclo productivo, en donde se encontró que la aplicación de B aumenta la firmeza de los frutos, siendo el T50 el que presentó la mayor firmeza (9,69 Kgf) seguido por T100, T0 y T150 (9,11, 8,65 y 8,61 Kgf, respectivamente) (Fig. 3-2 B).

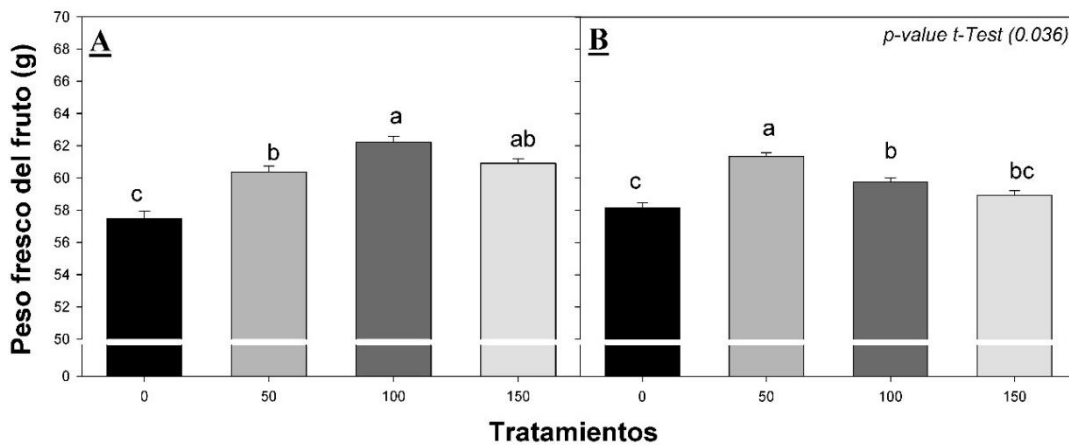


Fig. 3-1. Peso fresco de frutos de gulupa bajo diferentes dosis foliares de B. (primer ciclo **A** y segundo ciclo **B**), Letras diferentes indican diferencias significativas ($\alpha=0,05$) entre dosis de B de acuerdo con la prueba paramétrica *Tukey*; p -valor de la prueba de *t* de *student* $\leq 0,05$ indica diferencias entre los dos ciclos de producción. Las barras verticales corresponden al error estándar

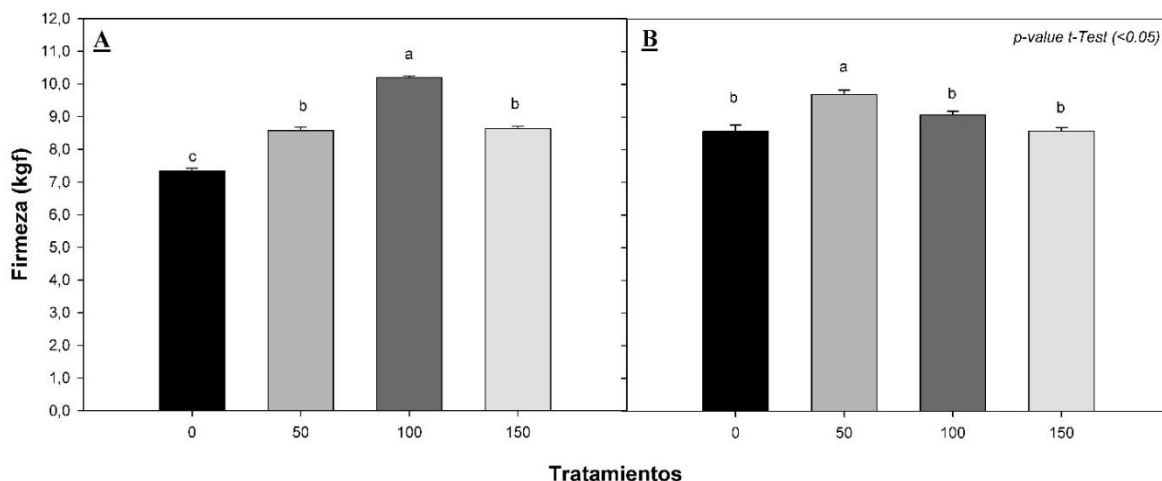


Fig. 3-2. Firmeza de frutos de gulupa bajo diferentes dosis foliares de B. (primer ciclo **A** y segundo ciclo **B**). Letras diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre dosis de B de acuerdo con la prueba paramétrica Tukey; p-valor de la prueba de t de student $\leq 0,05$ indica diferencias entre los dos ciclos de producción. Las barras verticales corresponden al error estándar.

A diferencia de la firmeza el grosor de la epidermis no presentó diferencias estadísticamente significativas entre los ciclos productivos ($P \geq 0,05$). Sin embargo, para el primer ciclo productivo se observó diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos, siendo el T100 el que presentó el mayor grosor de la epidermis (3,92 mm), seguido por T50, T150 y T0 (3,28, 2,88 y 2,66 mm, respectivamente) (Fig. 3-3 A). Resultados similares se presentaron para el segundo ciclo productivo, aunque el T50 presentó el mayor grosor de la epidermis (3,43 mm) sin observar diferencias estadísticamente significativas para T50 y T100 (Fig. 3-3B).

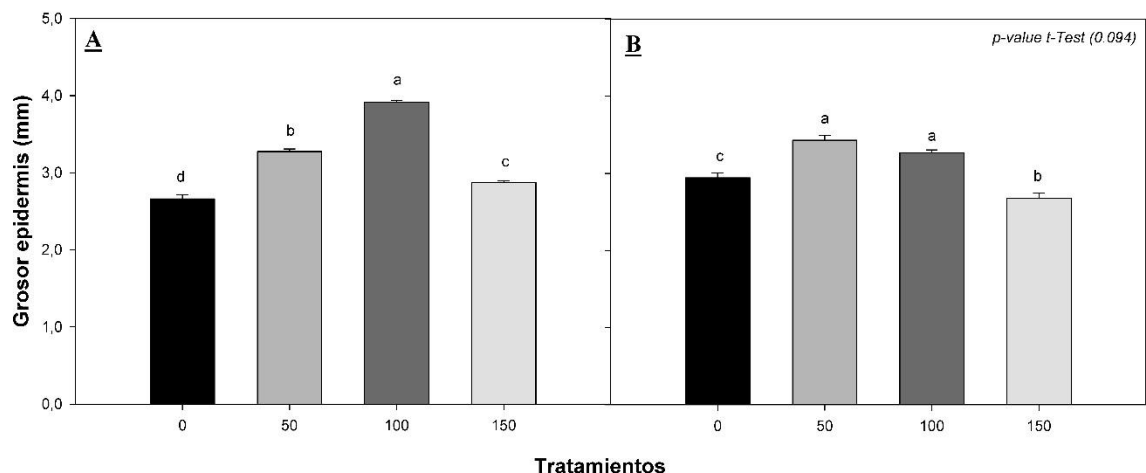


Fig. 3-3. Grosor de la epidermis de frutos de gulupa bajo diferentes dosis foliares de B. (primer ciclo **A** y segundo ciclo **B**), Letras diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre dosis de B de acuerdo con la prueba paramétrica *Tukey*; *p*-valor de la prueba de *t* de *student* $\leq 0,05$ indica diferencias entre los dos ciclos de producción. Las barras verticales corresponden al error estándar.

3.3.2 Color

Las características de color evaluadas para los frutos bajo las aplicaciones foliares de B no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre ciclos productivos ($P > 0,05$). Se resalta que a medida que la concentración de B aumenta en la aplicación foliar aumenta la luminosidad indicando que frutos con la mayor concentración de B en la solución foliar son más claros (Fig. 3-4 A y B). Así mismo aumenta el chroma, ésta variable indica la saturación o intensidad de color, presentando el T150 el mayor valor para el primer ciclo y segundo ciclo (Fig 3-4 C y D). El ángulo $^{\circ}h$ indica el tono o color, los frutos bajo la aplicación foliar de los tratamientos oscilan entre 50 y 70°, indicando tonalidad roja a morado, en cuanto mayor es $^{\circ}h$ se acerca a una tonalidad morada. En el primer ciclo productivo se observó el mayor valor para T50 (77,89°) sin presentar diferencias estadísticamente significativas con respecto a T100, en el segundo ciclo se observó que no hay diferencias estadísticamente significativas entre T50, T100 y T150, presentando el mayor valor el T50 (73,89°) (Fig. 3-4 E y F).

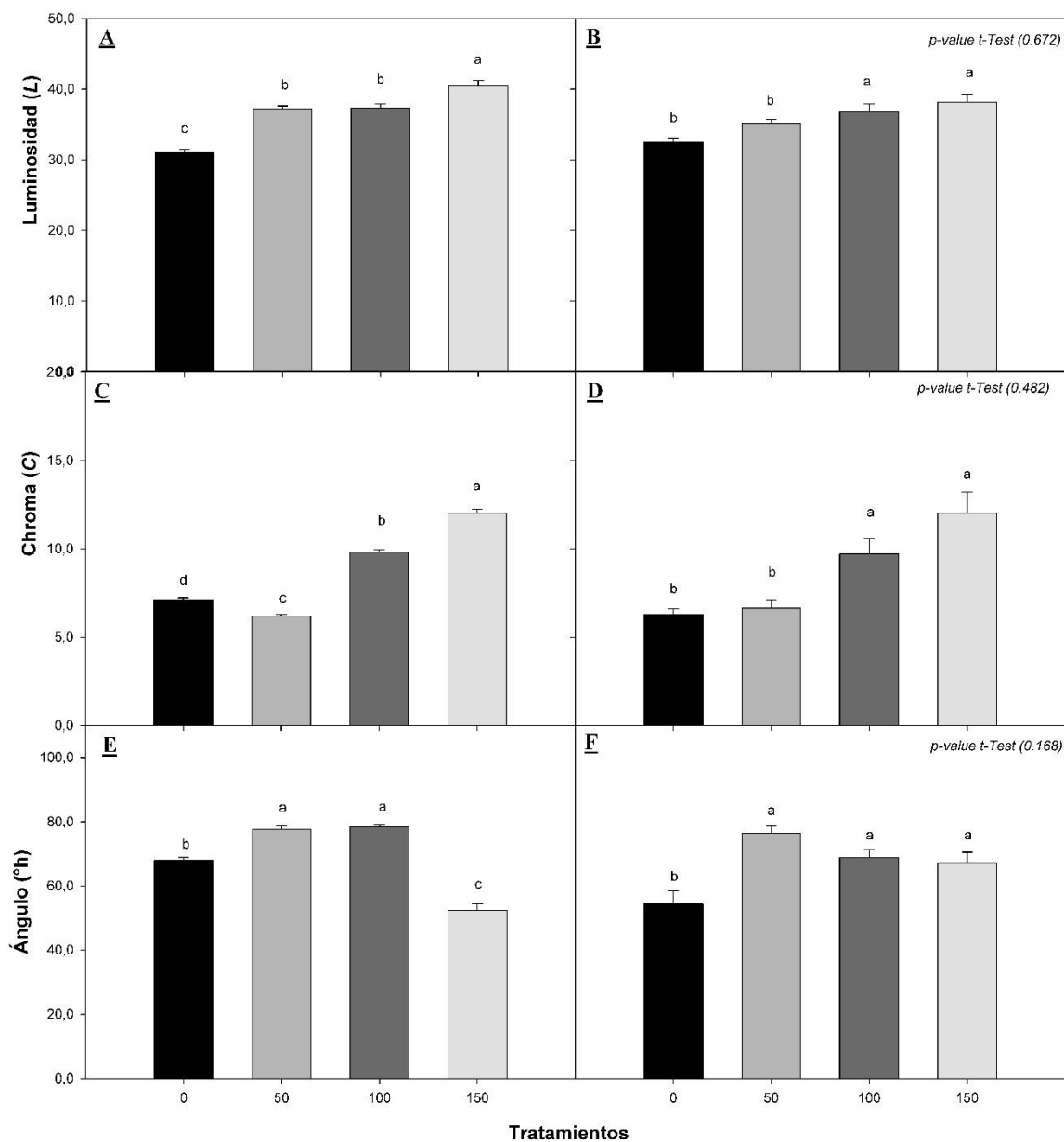


Fig. 3-4. Características del color en frutos de gulupa bajo diferentes dosis de aplicación foliar de B. Luminosidad (L) (primer ciclo **A** y segundo ciclo **B**), Chroma (C) (primer ciclo **C** y segundo ciclo **D**), Ángulo (°h) (primer ciclo **E** y segundo ciclo **F**). Letras diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre dosis de B de acuerdo con la prueba paramétrica *Tukey*; *p*-valor de la prueba de *t* de *student* $\leq 0,05$ indica diferencias entre los dos ciclos de producción. Las barras verticales corresponden al error estándar.

3.3.3 pH, sólidos solubles totales y acidez total titulable

Frutos de gulupa bajo la aplicación foliar de B a diferentes concentraciones mostraron que a medida que aumenta la concentración de B en la solución foliar aumenta el pH del jugo de los frutos sin presentarse diferencias estadísticamente significativas entre ciclos productivos (*P* valor 0,773); así mismo, se observó que no se presentaron diferencias significativas entre T50, T100 y T150 para ambos ciclos evaluados. Se resalta para ambos ciclos productivos un bajo valor de pH para el T0 (2,70 y 2,75, respectivamente). En el primer ciclo productivo el T100 presentó el mayor valor de pH (4,53) y en el segundo ciclo productivo el T50 mostró el mayor valor (5,52) (Fig. 3-5). El mismo comportamiento se observó para los sólidos solubles totales, en donde el T100 presentó el mayor valor (14,97) para el primer ciclo productivo, y en el segundo ciclo se observó para el T50 (15,69) (Fig. 3-6).

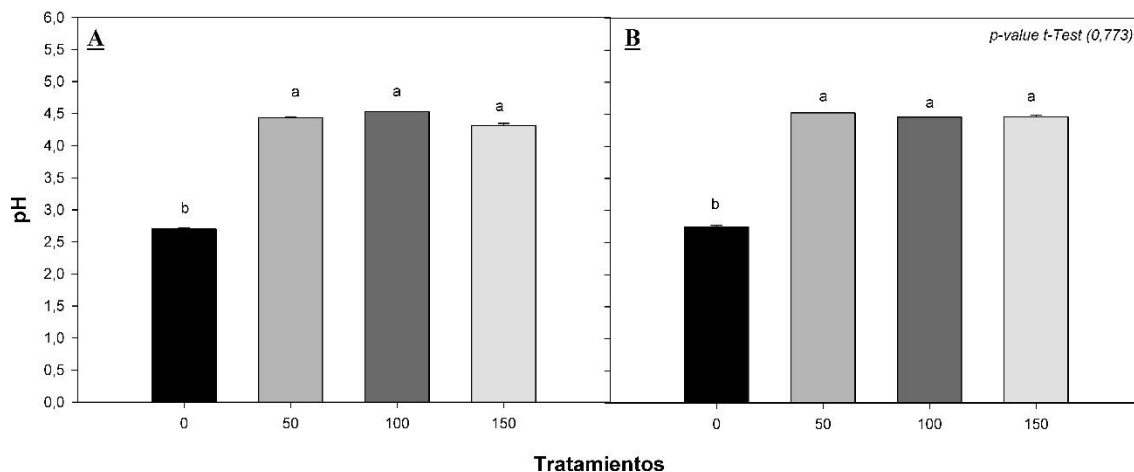


Fig. 3-5. pH en frutos de gulupa bajo diferentes dosis foliares de B. (primer ciclo **A** y segundo ciclo **B**), Letras diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre dosis de B de acuerdo con la prueba paramétrica *Tukey*; *p*-valor de la prueba de *t* de *student* $\leq 0,05$ indica diferencias entre los dos ciclos de producción. Las barras verticales corresponden al error estándar.

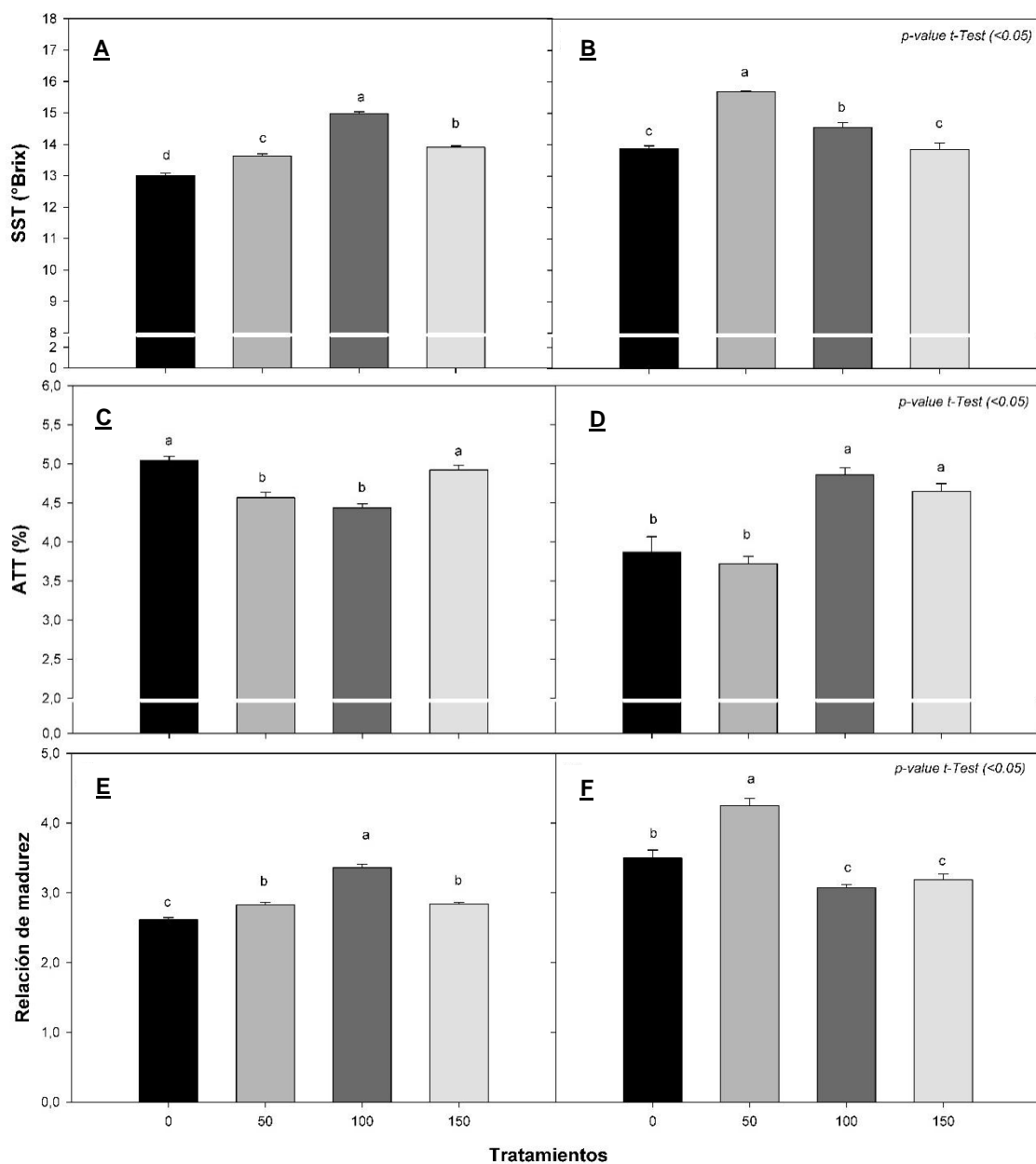


Fig. 3-6. Características poscosecha de frutos de gulupa bajo diferentes dosis foliares de B. Sólidos solubles totales (SST) (primer ciclo **A** y segundo ciclo **B**), Acidez total titulable (ATT) (primer ciclo **C** y segundo ciclo **D**), Relación de madurez (primer ciclo **E** y segundo ciclo **F**). Letras diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre dosis de B de acuerdo con la prueba paramétrica *Tukey*; *p*-valor de la prueba de *t* de *student* $\leq 0,05$ indica diferencias entre los dos ciclos de producción. Las barras verticales corresponden al error estándar.

En cuanto a la acidez total titulable se presentaron diferencias estadísticamente significativas (P valor $\leq 0,05$) entre ciclos productivos. Para el primer ciclo productivo se observó que el T0 y T150 mostraron los mayores valores (5,04 y 4,92%, respectivamente) y T100 y T50 los menores valores (4,44 y 4,57%, respectivamente) (Fig. 3-6 C). En cuanto al segundo ciclo, se observa que no hay un patrón entre tratamientos, siendo el T100 el que presentó el mayor %ATT (4,86%), seguido por T150, T0 y T50 (4,56, 3,87 y 3,72, respectivamente) (Fig. 3-6 D). La relación de madurez mostró diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos para los dos ciclos, presentando el T100 la mayor relación de madurez para el primer ciclo productivo (3,36) y el T50 (4,25) para el segundo ciclo productivo (Fig. 3-6 E y F).

3.4 Discusión

En este estudio se encontró que la aplicación foliar de B en plantas de gulupa en etapa de formación de fruto presentó un efecto positivo en el peso fresco de los frutos para el primer ciclo productivo y para todos los tratamientos en que se adicionó B en la solución foliar, siendo el T100 el que mostró el mayor peso de frutos. En el segundo ciclo se observó que el T50 obtuvo el mayor peso de frutos, mientras el T0 y T150 presentaron los menores valores. Resultados similares han sido reportados para *P. edulis f. falvicarpa* en donde la deficiencia de este elemento genera una reducción del 44,06% en el peso fresco de los frutos (Freitas *et al.*, 2006). Así mismo se ha documentado el incremento de peso fresco cuando se realiza aplicación foliar de B en etapa precosecha en especies frutales tales como blueberries (*Vaccinium corymbosum*) (Meriño *et al.*, 2016), *Physalis peruviana* (Martinez, *et al.*, 2008), *Fragaria x ananassa* cv. Camarosa (Kazemi, 2014), *Vitis vinífera* (Nikkhah *et al.*, 2013). Los efectos del B en el incremento del peso fresco de los frutos han sido bien estudiados, y están relacionados con el papel de este micronutriente en la división celular, elongación celular y translocación de agua y carbohidratos (Ozturk *et al.*, 2010; Wimmer y Eichert, 2013), siendo entonces la deficiencia de B una limitante en el llenado de los frutos. Se resalta que en este estudio para el segundo ciclo productivo el T150 no mostró un incremento en el peso fresco de los frutos comparados con los otros tratamientos con adición de B en la solución foliar. En este sentido, se ha documentado que el exceso de B afecta la acumulación de materia fresca debido principalmente a

efectos anatómicos de la pared celular los cuales han sido asociados a cambios o anomalías en la pared celular, mientras que los cambios fisiológicos y bioquímicos se han asociado a efectos secundarios del daño de la pared celular (Marschner, 2012).

Se encontró que la adición de B en la fertilización foliar promueve un aumento en el grosor de la epidermis del fruto y por consiguiente un aumento de la firmeza, siendo más marcado para los tratamientos T50 y T100 en ambos ciclos productivos evaluados, resaltando que el T0 presentó el menor grosor de la epidermis. Pinzón *et al.* (2007) reportan que para el estado 4 de madurez de gulupa los frutos presentan un grosor de epidermis de aproximadamente 3,02 mm, y en el presente estudio se encontró que la adición de B bajo el T50 y T100 supera el valor reportado por Pinzon *et al.* (2007), lo anterior puede fundamentarse en la función principal del B en la biosíntesis y la estructura de la pared celular (Ahmad *et al.*, 2009), debido a que el B participa en los entrecruzamientos de polisacáridos pécticos a través de la unión de moléculas de ramnogalacturonano II (RG-II) (Reid, 2013).

Los valores de los parámetros de color para frutos de gulupa con el 85% de color púrpura en la epidermis corresponden a $L=33,6$, $C=9,57$ y $h^{\circ}=59,6$ (Jiménez *et al.*, 2011) los cuales coinciden con los encontrados en el presente estudio para todos los tratamientos evaluados. El color de la cáscara de gulupa es uno de los criterios más usados para juzgar el estado de madurez del fruto, y por tanto la aplicación de B foliar no modifica los parámetros de color para la selección del estado de madurez del fruto para cosecha; sin embargo, se resalta que el chroma aumenta a medida que se incrementa la concentración de B en la aplicación foliar, indicando un leve aumento en la intensidad del tono o del color púrpura, este color en gulupa está asociado a la desenmascaramiento de antocianinas a medida que madura el fruto (Jiménez *et al.*, 2011). Aunque no ha sido bien estudiado el efecto de la aplicación foliar de B en la coloración de frutos, Wojick *et al.* (2008) reportaron para *Malus domestica* que la aplicación foliar de B incrementa en un 38,46% el tono rojo de las manzanas, y dicha correlación entre color y aplicación de B está asociada a altos contenidos de SST. Arreola *et al.* (2008) indican que este efecto puede estar relacionado con el papel de B con el metabolismo y el transporte de carbohidratos, ya que las antocianinas están formadas por una antocianidina y un carbohidrato.

En el presente estudio se observó que la aplicación foliar con B incrementó el contenido de SST en frutos de gulupa, siendo para el primer ciclo de producción el T100 el que presentó mayor SST y en el segundo ciclo el T50. Resultados similares han sido reportados para otras especies frutales tales como *Malus domestica* (Lu *et al.*, 2013) y *Pyrus communis* (Shalan *et al.*, 2013), *Fragaria* x *ananassa* (Kazemi *et al.*, 2014), *Pyrus pyrifolia* (Khalaj *et al.*, 2017). Como se ha descrito a lo largo de la presente investigación el B participa en el transporte de azúcares, y por tanto una deficiencia del elemento causa una acumulación de azúcares en tejidos; en concordancia se ha documentado que se requiere de B para la síntesis de uracilo, el cual es precursor de la coenzima UDFP (uridine diphosphate glucose), y esta a su vez es esencial en la formación de sacarosa (Pelbeam y Kirkby, 1983) y, por tanto, si se inhibe su síntesis se limita la translocación de azúcares desde las hojas a otros órganos en llenado. Los valores de SST encontrados en la presente investigación se encuentran dentro de los rangos reportados para gulupa los cuales se encuentran entre 13 y 16 °Brix en frutos maduros (Flórez *et al.*, 2012). Los anteriores valores se consideran altos frente a otros estados de madurez debido a la conversión de polisacáridos en azúcares más sencillos como la sacarosa, glucosa y fructosa (Kishore *et al.*, 2011; Pongener *et al.*, 2013).

Al igual que los SST se observó que el pH se incrementa con la adición de B en la solución foliar para los dos ciclos evaluados. Para gulupa se ha reportado que el pH en el estado de madurez 4 varía entre 2,5 y 3,3 (Díaz *et al.*, 2012; Franco *et al.*, 2014; Orjuela-Baquero *et al.*, 2011), valores que coinciden con los encontrados en el presente estudio para el control (Tratamiento 0); sin embargo, la aplicación de B a diferentes dosis aumentó el pH de la pulpa de gulupa. Esta tendencia fue reportada para frutos de *Fragaria* x *ananassa* en donde la aplicación de B incrementó en un 6,25% el pH de los frutos con respecto a frutos sin aplicación (Kazemi *et al.*, 2014). El efecto del B sobre el pH de los frutos no ha sido bien investigado, aunque puede estar relacionado con la influencia del B en el flujo de iones, el cual puede estar relacionado directa o indirectamente con la función del boro en las membranas celulares, principalmente sobre las bombas ATPasas (Marschner *et al.*, 2012). En este sentido, se puede inferir que en plantas deficientes de B se reduce el nivel de protones (H⁺) liberado al medio debido a la disminución de la actividad de la bomba

ATPasa/H⁺ (Cakmak y Romheld. 1997), por tanto, la acumulación de protones dentro de las células puede generar la condición de acidez.

En cuanto a la ATT no se encontró un patrón claro frente a la adición de B en la solución foliar; sin embargo, se observa que el T100 y T50 presentaron los menores valores de ATT para el primer y segundo ciclo respectivamente, lo cual está asociado al aumento de los SST, así mismo estos tratamientos presentan la mayor relación de madurez. Los valores de acidez total titulable reportados para gulupa oscilan entre 2,8 y 5% de ácido cítrico en frutos maduros (Orjuela-Baquero *et al.*, 2011; Kishore *et al.*, 2011; Díaz *et al.*, 2012; Franco *et al.*, 2014), siendo el ácido cítrico el predominante en la pulpa de gulupa (Franco *et al.*, 2014). La tendencia en la reducción de la ATT durante la maduración de frutos climatéricos (Pongener *et al.* 2013) se debe a que los ácidos orgánicos pueden ser utilizados como sustrato respiratorio (ciclo de Krebs), ser convertidos en azúcares (gluconeogénesis), fermentación, conversión a aminoácidos o producción de metabolitos secundarios (Famiani *et al.*, 2015). Diversos estudios muestran que el B favorece diversos parámetros relacionados con la calidad poscosecha de los frutos, incluyendo peso, firmeza, SST, entre otros (Karim *et al.*, 2000; Lu *et al.*, 2013).

3.5 Conclusiones

La calidad poscosecha de frutos de gulupa, sometidos a deficiencia de B en fase de formación de fruto, mostró para ambos ciclos productivos no tener la mejor calidad posrecolección con respecto a los otros tratamientos evaluados. Se observó que para el primer y segundo ciclo productivo los frutos bajo la aplicación del T100 y T50, respectivamente, mostraron la mejor calidad poscosecha, presentando los mejores valores de firmeza, grosor de la epidermis, SST y menor contenido de ATT. También se encontró que la adición de B en la solución foliar mejora los atributos de color en los frutos y el pH de la pulpa.

4. Conclusiones y recomendaciones generales

4.1 Conclusiones

Las plantas de gulupa bajo la aplicación foliar de B en la etapa de floración y fructificación mostraron diferentes respuestas fisiológicas y de crecimiento frente a las concentraciones de B en la solución foliar para los dos ciclos productivos evaluados. En los dos ciclos productivos se observó que la deficiencia de B (0 kg ha^{-1} de B) presentó las limitaciones más marcadas en el intercambio gaseoso de las plantas, mostrando los valores más bajos de A_N asociada a una baja g_s ; sin embargo, no se observó una reducción en C_i , lo cual sugiere que las plantas no presentaron una limitación estomática en condiciones de deficiencia de B. Así mismo, la deficiencia de este elemento mostró los menores contenidos de CHL total, *CHLa*, *CHLb* y carotenoides, y en contraste se presentó un incremento en el contenido de azúcares totales y reductores, lo que puede sugerir que la baja A_N en condición de deficiencia de B puede estar relacionada a factores no estomáticos de la fotosíntesis.

Las bajas A_N y contenidos de clorofilas sumados a la acumulación de azúcares totales solubles en hojas pueden justificar el menor diámetro de frutos, menor grosor de epidermis, menor crecimiento de ramas productivas, disminución en la firmeza de los frutos, menor peso de frutos, bajo contenido de SST y pH, debido a la baja removilización de azúcares y carbohidratos a órganos demandantes. Así mismo, la deficiencia de B presentó los menores valores de emisión de botones florales, frutos y cuajado de fruto, indicando que en esta etapa el suministro de B es esencial.

En el segundo ciclo productivo se resalta que la aplicación del T100 y T150 mostró un leve efecto negativo sobre la A_N , g_s , C_i/C_a , contenido de clorofilas, características de crecimiento de frutos, cuajado y características poscosecha de los frutos; sin embargo, no fueron tan marcadas como en el T0. Lo anterior, posiblemente, puede deberse al incremento de B en las hojas de la gulupa presentadas en este ciclo, sugiriendo que la serie de aplicaciones de B para el T100 y T150 generó la acumulación de este elemento

en las hojas, y aunque no se llegó al límite reportado para pasifloras, para esta investigación estas dosis generaron un efecto limitante.

Con lo anterior, se puede concluir que las plantas de gulupa bajo la aplicación foliar de B en etapa de floración y formación de fruto a dosis de 0,6 y 0,3 kg ha⁻¹ de B para el primer y segundo ciclo productivo, respectivamente, presentaron la mejor respuesta fisiológica y los frutos las mejores características poscosecha.

4.2 Recomendaciones

En futuras investigaciones de fertilización foliar con B en plantas de gulupa se recomienda determinar el contenido de almidón en hojas con el fin de tener un mejor entendimiento de las limitaciones no estomáticas de la fotosíntesis. Adicionalmente se sugiere evaluar en la etapa de floración la germinación del polen con el fin de sustentar y dar más soporte al efecto del B sobre el cuajado del fruto en esta especie, así mismo en esta etapa se recomienda realizar la determinación de B en tejidos florales la cual permitirá correlacionar la concentración de este elemento y el efecto sobre el desarrollo de órganos florales y sobre el cuajado del fruto. En la fase de calidad poscosecha se sugiere hacer la determinación de sacarosa, fructosa y glucosa con el fin de establecer la relación del B y el transporte de azúcares a órganos vertedero.

5. Bibliografía

Agronet (2015). Sistema de estadísticas agropecuarias – SEA. Obtenido de: <http://www.agronet.gov.co/agronetweb1/estad%C3%ADsticas.aspx>. Consultado en Junio del 2017.

Agusti, M., A. Martínez, M. Mariano y V, Almela. 2003. Cuajado y desarrollo de los frutos críticos. Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universidad Politécnica de Valencia, España. 82 p.

Ahmad, W., A. Niaz., S. Kanwal y K. Rasheed. 2009. Role of boron in plant growth: a review. *J. Agric. Res.* 47(3): 329-338.

Albuquerque, R., W. Pereira., L. Marques., R. Araujo y E. Lopes. 2010. Crescimento e composição mineral de mudas de maracujazeiro amarelo fertilizados com boro e potássio. *Engenharia Ambiental - Espírito Santo do Pinhal.* 7 (2): 84-96.

Allen, R., L. Pereira., D. Raes y M. Smith. (1998). Crop evapotranspiration-Guidelines for computing crop water requirements-FAO Irrigation and drainage paper 56. FAO, Rome, 300 (9): D05109.

Angulo, R. 2009. Gulupa. *Passiflora edulis* var. *edulis* Sims. Bayer CropScience S.A. Bogotá, Colombia. 40 p.

Añez, M y R. España. 2011. Efecto de prohexadiona de calcio y boro sobre las variables vegetativas y reproductivas en parchita (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deneger). *Revista Unelles de Ciencia y Tecnología.* 29: 54-58.

Archana, N. 2013. Antioxidant responses and water status in Brassica seedlings subjected to boron stress. *Acta Physiology Plant.* 35: 697-706.

Arreola, J., A. Castillo., L. Valdez., M. Colina., J. Pineda y E. Avitia. 2008. Effect of calcium, boron and molybdenum on plant growth and bract pigmentation in poinsettia. *Rev. Fitotecnia Mexicana*. 31 (2): 165 – 172.

Avilán, L., L. Leal y D. Batista. 1992. *Manual de fruticultura. Principios y manejo de la producción*. Segunda edición. Editorial América, Caracas. 1387-1401p.

Azcón-Bieto, J y M. Talón. 2008. *Fundamentos de fisiología vegetal*. McGraw-Hill segunda edición. Madrid. 275p.

Baker, N. 2008. Chlorophyll Fluorescence: A Probe of Photosynthesis In Vivo. *Annual Review Plant Biology*. 59: 89-113.

Bariya, H., S. Bagtharia y A. Patel. 2014. Boron: A promising nutrient for increasing growth and yield of plants. 153-170 p. En: Hawkesford, M (ed.). *Nutrient use efficiency in plants, plant ecophysiology*. Vol. 10. Springer International Publishing, Switzerland.

Blevins, D, y K. Lukaszewski. 1998. Boron in plant structure and function. *Annual review of plant physiology and plant molecular biology*. 49: 481–500.

Bogiani. J., A. Estevens y C. Rosolem. 2013. Carbohydrate production and transport in cotton cultivars grown under boron deficiency. *Scientia Agricola*. 70 (6): 442-448.

Boldingh, H., M. Alcaraz., T. Thorp., P. Minchin., N. Gould y J. Hormanza. 2016. Carbohydrate and boron content of styles of ‘Hass’ avocado (*Persea americana* Mill.) flowers at anthesis can affect final fruit set. *Scientia Horticulturae* 198: 125–131.

Botta, A., M. Marcon., C. Marín., N. Sierra., M. Carrion y R. Piñol. 2007. Mejora en cuajado y calibre tras la aplicación de Boro con aminoácidos en diferentes cultivos. *Actas de Horticultura. Sociedad Española de Ciencias Hortícolas* 48: 592-595.

Broadley, M., P. Brown., I. Cakmak., Z. Rengel y F. Zhao. 2012. Function of nutrients: Micronutrients. pp. 191-248. En: Marschner, P. (ed.). *Marschner’s mineral nutrition of higher plants*. 3rd ed. Elsevier, London.

Brown, P y B. Shelp. 1997. Boron mobility in plants. *Plant and Soil* 193: 85–101.

Cakmak, I y V. Romheld. 1997. Boron deficiency-induced impairments of cellular functions in plants. *Plant and Soil*. 193: 71-83.

Camacho, J y A. González. 1999. Boron deficiency causes a drastic decrease in nitrate content and nitrate reductase activity, and increases the content of carbohydrates in leaves from tobacco plants. *Planta*. 209: 528-536.

Camacho, J., J. Rexach y A. Gonzales-Fonte. 2008. Boron in plants: Deficiency and toxicity. *Journal of Integrative Plant Biology* 50 (10): 1247–1255.

Carvalho, A., P. Furno., M. Mendoca., P. Monnerat y A. Gomes. 2011. Yellow pasión fruit nutritional diagnosis at different phenological stages by the diagnosis and recommendation integrated system method. *Journal of plant nutrition*. 34: 614-626.

Cervilla, L., M. Rosales., M. Rubio., E. Sanchez., B. Blasco., J. Rios., L. Romero y J. Ruiz. 2009. Involment of lignification and membrane permeability in the tomato root response to boron toxicity. *Plant science* 176: 545-552.

Chen, M., S. Mishra., S. Heackathorn., J. Frantz y C. Krause. 2014. Proteomic analysis of *Arabidopsis thaliana* leaves in response to acute boron deficiency and toxicity reveals effects on photosynthesis, carbohydrate metabolism, and protein synthesis. *Journal of Plant Physiology*. 171: 235-242.

Chmielewski, F. 2013. Phenology in Agriculture and Horticulture. Chapter 9. En: Schwartz, M. (Ed.). *Phenology: An Integrative Environmental Science*. Springer Science Business Media. 554 p.

Coca, C., G. Nates., R. Ospina., C. Melo y M. Amaya. 2011. Biología floral y reproductiva de la gulupa *Passiflora edulis* Sims f. *edulis*. *Caldasia*. 33 (2): 433-451.

Cong, X., H. Jing., N. Lin., Z. Xia., M. Huang y X. Jiang. 2015. Boron deficiency affects cell morphology and structure of Young leaves of radish. *Acta Physiology Plant*. 37: 247.

Contreras, J., L. Calderon., E. Guerra y B. Garcia. 2011. Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia. *Food Research International* 44: 2047–2053.

Davarpanah, S., A. Tehranifar., G. Davarynejad., J. Abadia y R. Khorasani. 2016. Effects of foliar applications of zinc and boron nano-fertilizers on pomegranate (*Punica granatum* cv. Ardestani) fruit yield and quality. *Scientia Horticulturae* 210: 57–64.

Davies, J., D. Sanders., P. Nelson., L. Lengnick y W. Sperry. 2003. Boron Improves Growth, Yield, Quality, and Nutrient Content of Tomato. *Journal American Society for Horticultural Science*. 128(3): 441–446.

Dell, B y L. Huang. 1997. Physiological response of plants to low boron. *Plant Soil* 193: 103–120.

Deming, B y W. Adams. 2006. Photoprotection in an ecological context: the remarkable complexity of thermal energy dissipation. *New Phytologist Journal*. 172(1): 11-21.

Demiray, H y A. Dereboylu. 2013. Effects of excess and deficient boron and niacin on the ultrastructure of root cells in *Daucus carota* cv. Nantes. *Turkish Journal of Botany*. 37: 160-166.

Díaz R., L. Moreno., R. Pinilla., W. Carrillo, L. Melgarejo., O. Martínez., S, Hernández y J. Fernández-Trujillo. 2012. Postharvest behavior of purple passion fruit in Xtend® bags during low temperature storage. *Acta Horticulturae* 934: 727-731.

Dimkpa, C y P. Bindraban. 2016. Fortification of micronutrients for efficient agronomic production: a review. *Agronomy for Sustainable Development*. 36: 2-27.

Dubois, M., K. Gilles K., J. Hamilton., P. Reners y F. Smith. 1965. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*. 28 (3):350-356.

El-Gawad, A y H. Osman. 2014. Effect of Exogenous Application of Boric Acid and Seaweed Extract on Growth, Biochemical Content and Yield of Eggplant. *Journal of Horticultural Science & Ornamental Plants* 6 (3): 133-143.

Esteban, R., J. Mora., J. Becerril y J. Garcia-Plazaola. 2015. Versatility of carotenoids: An integrated view on diversity, evolution, functional roles and environmental interactions. *Environmental and Experimental Botany*. 119: 63–75.

Fageira, N., M. Barbosa., A. Moreira y C. Guimarañes. 2009. Foliar Fertilization of Crop Plants. *Journal of Plant Nutrition*. 32: 1044–1064.

FAO. 2006. Probióticos en los alimentos, propiedades saludables y nutricionales y directrices para la evaluación. FAO y OMS, Roma. 29p.

Fernández, P., G. Oliveira.,C. Rugeiro y H. Haang. 1977. Extracao de nutrientes durante o desenvolvimento do fruto do maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). *O solo*. 69 (1): 16-21 p.

Fernández, V., T. Sotiropoulos y P. Brown. 2013. Foliar Fertilization Scientific Principles and Field Practices. International Fertilizer Industry Association (IFA). Paris, France. 145 p.

Fischer, G. 2000. Crecimiento y desarrollo. En: Flores, V., G. Fisher y A. Sora (eds). En: Producción, post cosecha y explotación de la uchuva (*Physalis peruviana* L.). Bogotá, Fondo Nacional de fomento hortofrutícola, Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. 175p.

Fischer, G., F. Casierra-Posada y W, Piedrahita. 2009. Ecofisiología de las especies pasifloráceas cultivadas en Colombia. 45-69 p. En: Miranda *et al.* (eds). Cultivo, poscosecha y comercialización de las pasifloráceas en Colombia: maracuyá, granadilla, gulupa y curuba. Sociedad Colombiana de Ciencias Hortícolas, Bogotá. 354 p.

Flexas, J., J. Bota., J. Cifre., J. Escalona., J. Galmes., J. Gulias., S. Martinez., M. Moreno., M. Carbo., D. Riera., B. Sampol y H. Medrano. 2004. Understanding down-regulation of photosynthesis under water stress: future prospects and searching for physiological tools for irrigation management. *Annals of Applied Biology*. 144: 273-283.

Flórez, L., L. Pérez-Martínez y L. Melgarejo. 2012. Manual calendario fenológico y fisiología del crecimiento y desarrollo del fruto de gulupa (*Passiflora edulis* Sims) de tres localidades del departamento de Cundinamarca. Capítulo 2, p. 33- 51. En: Melgarejo, L. (ed). Ecofisiología del cultivo de la gulupa *Passiflora edulis* Sims. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia. 144p.

Fageira, N., M. Barbosa., A. Moreira y C. Guimaraes. 2009. Foliar Fertilization of Crop Plants. *Journal of Plant Nutrition* 32: 1044–1064.

Franco, G., J. Cartagena., G. Correa., B. Rojano., A. Piedarahita., A. Ibartz y V. Falguera. 2013. Pre and Postharvest Enzymatic Activity in Gulupa (*Passiflora edulis* Sims) Fruits from the Colombian Lower Montane Rain Forest. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín* 67(1):7201-7208.

Freitas, M., P. Monnerat., A. Cordeiro y M. Vasconcellos. 2011. Sintomas visuais de deficiência de macronutrientes e boro em maracujazeiro-doce *Revista Brasileira de Fruticultura*. 33 (4): 1329-1341.

Freitas, M., P. Monnerat., L. Pinho y A. Carvalho. 2006. Deficiência de macronutrientes e boro em maracujazeiro doce: qualidade dos frutos. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 28 (3) 492-496.

Gil, I., M. Marroquín y L. Martinez. 2012. Efecto del zinc sobre la inducción de ramas productivas en gulupa (*Passiflora edulis* Sims). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*. 6(2), 152-160.

Gimeno, V., I. Simon., M. Nieves., V. Martinez., J. Camara-Zapata., A. Garcia y F. Garcia-Sánchez. 2012. The physiological and nutritional responses to an excess of boron by Verna lemon trees that were grafted on four contrasting rootstocks. *Trees*. 26: 1513–1526.

Goldbach, H y M. Wimmer. 2007. Boron in plants and animals: Is there a role beyond cell-wall structure? *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. 170 (1): 39-48.

Gómez, M.I. 2012. Fertilización de frutales. En: Fischer, G. (ed.). Manual para el cultivo de frutales en el trópico . Produmedios, Bogotá. 141-168 p.

Greig, A. 1943. Passion fruit culture. New Zelanda Journal of Agriculture Research. 106-108.

Guerrero, E. y L. Hoyos. 2011. Buenas prácticas agrícolas (BPA) con énfasis en el manejo integrado de plagas y enfermedades de gulupa (*Passiflora edulis* Sims.). Produmedios, Bogotá.

Guerrero, E., C. Potosi., L. Melgarejo y L. Hoyos-Carvajal. 2012. Manejo agronómico de la gulupa (*Passiflora edulis* Sims) en el marco de las buenas prácticas agrícolas (BPA). Capítulo 7. En: Melgarejo, L. (Ed). Ecofisiología del cultivo de la gulupa *Passiflora edulis* Sims. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia. 144p.

Guidi, L., E. Degl'Innocenti., G. Carmassi., D. Massa y A. Pardossi. 2011. Effects of boron on leaf chlorophyll fluorescence of greenhouse tomato grown with saline water. Environmental and Experimental Botany. 73: 57-63.

Gunes, A., G. Soylemezoglu., A. Inal., E. Bagci., S. Coban y O. Sahin. 2006. Antioxidant and stomatal responses of grapevine (*Vitis vinifera* L.) to boron toxicity. Scientia Horticulturae. 110 (3): 279-284.

Gururani, M., J. Venkatesh y L. Phan. 2015. Regulation of Photosynthesis during Abiotic Stress-Induced Photoinhibition. Molecular Plant 8: 1304–1320.

Haag, H., G. Oliveira., A. Borducchi, y J. Sarruge. 1973. Absorção de nutrientes por duas variedades de maracujá. Anais da ESALQ 30: 267-279.

Hajiboland, R., S. Bahrami-Rad., S. Bastani., R. Tolra y C. Poschenrieder. 2013. Boron re-translocation in tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) plants. Acta Physiology Plant. 35: 2373-2381.

Halder, N., A. Farid y M. Siddiky. 2008. Effect of Boron for Correcting the Deformed Shape and Size of Jackfruit. Journal Agricultural Rural Dev 6(1-2): 37-42.

Han, S., L. Chen., H. Jiang., B. Smith., L. Yang y Y. Xie. 2008. Boron deficiency decreases growth and photosynthesis, and increases starch and hexoses in leaves of citrus seedlings. *Journal Plant Physiol.* 165, 1331-1341.

Han, S., N. Tang., H. Jiang., L. Yang, Y. Li y L. Chen. 2009. CO₂ assimilation, photosystem II photochemistry, carbohydrate metabolism and antioxidant system of citrus leaves in response to boron stress. *Plant Science* 176: 143–153.

Haytova, D. 2013. A Review of Foliar Fertilization of Some Vegetables Crops. *Annual Review & Research in Biology* 3(4): 455-465.

Hunt, R. 2003. Growth analysis, individual plants. En: Murphy, B y D, Murray (Eds.), *Encyclopedia of Applied Plant Sciences*, 588-596.

Iwai, H., A. Hokura., M. Oishi., T. Ishii., S. Sakai y S. Satoh. 2006. The gene responsible for borate crosslinking of pectin rhamnogalacturonan-II is required for plant reproductive tissue development and fertilization, *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 103: 16592-16597.

Jimenez, Y., C. Carranza y M. Rodríguez. 2012. Gulupa (*Passiflora edulis* Sims). En: Fischer, G. (ed). *Manual para el cultivo de frutales en el trópico.* Produmedios, Bogotá. falta paginación

Jimenez, A., C. Sierra., F. Rodriguez., M. Gonzalez., F. Heredia y C. Osorio. 2011. Physicochemical characterisation of gulupa (*Passiflora edulis* Sims. f *edulis*) fruit from Colombia during the ripening. *Food Research International* 44: 1912–1918.

Jimenez-Neira, Y. 2006. El cultivo de la gulupa *Passiflora edulis* Sims. Tesis de especialización en Horticultura. Universidad Nacional de Colombia. Escuela de posgrados. Bogotá, Colombia. 49 p.

Jin, Z., W. Minyan., W. Lianghuan., W. Jiangguo y S. Chunhai. 2008. Impacts of Combination of Foliar Iron and Boron Application on Iron Biofortification and Nutritional Quality of Rice Grain. *Journal of Plant Nutrition.* 31: 1599–1611.

Kalaji, H., A. Jajoo., A. Oukarroum., A. Brestic., M. Zivcak., M. Samborska., I. Łukasik., V. Goltsev y R. Ladle. Chlorophyll a fluorescence as a tool to monitor physiological status of plants under abiotic stress conditions. *Acta Physiologiae Plantarum*, Copenhagen.38: 102-115.

Kastori, R., N. Plesnicar., D. Pankovic y Z. Sakac. 1995. Photosynthesis, chlorophyll fluorescence and soluble carbohydrates in sunflower leaves as affected by boron deficiency. *Journal of Plant Nutrition*. 18: 1751-1763.

Kazemi, M. 2014. Pre-harvest foliar application of paclobutrazol, boric acid and gibberellic acid influences vegetative growth, reproductive characteristics and quality of strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch. cv. Camarosa). *Bull. Env. Pharmacol. Life Scienti*. 3 (4): 183-187.

Khalaj, K., N. Ahmadi y K. Souri. 2017. Improvement of Postharvest Quality of Asian Pear Fruits by Foliar Application of Boron and Calcium. *Horticulturae*. 3- 15 p.

Kishore, K., K. Pathak., R. Shukla y R. Bhar. 2011. Effect of storage temperature on physico-chemical and sensory attributes of purple passion fruit (*Passiflora edulis* Sims). *Journal of Food Science and Technology* 48 (4): 484-488.

Knight, R y J. Sauls. 2015. The passion fruit. University of Florida. IFAS Extension. HS 60. 5 p.

Kobayashi, M., N. Kouzu., A. Inami., K. Toyooka., Y. Konishi, K. Matsuoka y T. Match. 2011. Characterization of Arabidopsis CTP:3-Deoxy-D-manno-2-Octulosonate Cytidylyltransferase (CMP-KDO synthetase), the Enzyme that Activates KDO During Rhamnogalacturonan II Biosynthesis. *Plant Cell Physiology*. 52 (10): 1832–1843.

Kocábek, T., Z. Svoboda., A. Zwi., S. Rolfe y M. Fellner. 2009. Boron-regulated hypocotyl elongation is affected in Arabidopsis mutants with defects in light signalling pathways. *Environmental and Experimental Botany* 67: 101–111.

Krapp, A., B. Hofmann., C. Schafêr y M. Sititt. 1993. Regulation of the expression of rbcS and other photosynthetic genes by carbohydrates: a mechanism for the 'sink regulation' of photosynthesis?. *The Plant Journal*. 3(6): 817-828.

Lahav, E y A. Whiley. 2002. Irrigation and mineral nutrition. *The Avocado Botany, production and uses*. CABI Publishing, Wallingford, UK. 146p.

Landi, M., A. Pardossi., D. Remorini y L. Guidi. 2013 (b). Antioxidant and photosynthetic response of a purple-leaved and a green-leaved cultivar of sweet basil (*Ocimum basilicum*) to boron excess. *Environmental and Experimental Botany* 85: 64– 75.

Landi, M., D. Remorini., A. Pardossi y L. Guidi. 2013 (a). Boron excess affects photosynthesis and antioxidant apparatus of greenhouse Cucurbita pepo and Cucumis sativus. *Journal Plant Research*. 126: 775-786.

Legiscomex, 2013. Inteligencia de mercados, exportación de frutas exóticas Colombianas. Consultado en <http://www.legiscomex.com/BancoMedios>.

Lehto, T., T. Ruuhola y B. Dell. 2010. Boron in forest trees and forest ecosystems. Review. *Forest Ecology and Management* 260: 2053–2069.

Lichtenthaler, H. 1987. *Methods in enzymology*, Colowick, S.P., N.O. Kaplan. Academic Press. San Diego, CA.

Liu, G., X. Dong., L. Liu., L. Wu., S. Peng y C. Jiang. 2014 Boron deficiency is correlated with changes in cell wall structure that lead to growth defects in the leaves of navel orange plants. *Scientia Horticulturae* 176: 54–62.

Lizarazo, M., C. Hernández., G. Fischer y M. Gómez. 2013. Biomasa, parámetros foliares y sintomatología en respuesta a diferentes niveles de manganeso, zinc y boro en curuba (*Passiflora tripartita* var. mollissima). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas* 7(1): 31-45.

Lu, Y., H. Liu., Y. Wang., X. Zhang y Z. Han. 2013. Synergistic roles of leaf boron and calcium during the growing season in affecting sugar and starch accumulation in ripening apple fruit. *Acta Physiology Plant*. 35: 2483-2492.

Marschner, P. 2012. Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants. Tercera Edición. Elsevier Ltda. 668 p.

Martinez, F., J. Sarmiento., G. Fischer y F. Jimenez. 2008. Efecto de la deficiencia de N, P, K, Ca, Mg y B en componentes de producción y calidad de la uchuva (*Physalis peruviana* L.). Agronomía Colombiana 26(3): 389-398.

Maxwell, K y G. Jhonson. 2000. Chlorophyll fluorescence—a practical guide. Journal of Experimental Botany. 51(345): 659–668.

Mei, L., Q. Li., H. Wang., O. Sheng y S. Peng. 2016. Boron deficiency affects root vessel anatomy and mineral nutrient allocation of *Poncirus trifoliata* (L.). Acta Physiology Plant. 38:86.

Melendez, G y E. Molina. 2001. Fertilidad de los suelos y manejo de la nutrición de cultivos en Costa rica. Memorias. Laboratorio de suelos y foliares CIA/UCR. Centro de investigaciones agronómicas. Costa Rica. 142 p.

Mengel, K., E. Kirkby., H. Kosegarten y T. Appel. 2001. Principles of plant nutrition. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. 849 p.

Menzel, C y D. Simpson. 1988. Effect of Continuous Shading on Growth, Flowering and Nutrient Uptake of Passionfruit. Scientia Horticulturae, 35: 77-88.

Meriño, C., E. Pacheco y M. Reyes. 2016. The effect of foliar boron spraying on the fruit features of Brigitta and Legacy highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum*) cultivars. Ciencia e Investigación Agraria. 43 (3):452-463.

Moreno, L. 2009. Respuesta de las plantas al estrés por déficit hídrico. Una revisión. Agronomía Colombiana. 27(2): 179-191,

Moreno, D., I. Quiroga., H. Balaguera y S. Magnitskiy. 2016. El estrés por boro afecta la fotosíntesis y la síntesis de compuestos antioxidantes en plantas. Una revisión. Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas 10 (1): 137-148.

Muhammad, S., B. Sanden., B. Lampinen., S. Saa., S. Siddiqui., A. Olivos., K. Shackel., T. Dejong y P. Brawn. 2015. Seasonal changes in nutrient content and concentrations in a mature. *European Journal of Agronomy*. 65: 52–68.

Mukhopadhyay, M., P. Ghosh y T. Mondal. 2013. Effect of boron deficiency on photosynthesis and antioxidant responses of Young tea plantlets. *Russian, Journal of Plant Physiology*. 60 (5): 633-639.

Nakasone, H. y R. Paull. 1998. *Tropical fruits*. CAB Internacional, Washington. 270-291 p.

Nali, C., A. Francini., E. Pellegrini., S. Loppi y G. Lorenzini. 2015. Visible Injury, CO₂ Assimilation and PSII Photochemistry of Eucaliptus Plants in Response to Boron Stress. En: Ozturk, M. *Plants, Pollutants and Remediation*. Springer Science Business Media Dordrecht. 1-11p.

Nelson N. 1944. A photometric adaptation of Somogyi method for the determination of glucose. *Journal Biology Chemistry*. 153:257-262.

Niewiadomski, P., S. Knappe., S. Geimer., K. Fischer., B. Schulz., U. Unte., M. Rosso., P. Ache., U. Flugge y A. Schneider. 2005. The Arabidopsis plastidic Glucose 6-Phosphate/Phosphate translocator GPT1 is essential for pollen maturation and embryo sac development. *Plant Cell*. 17: 760–775.

Nikkhah, R., H. Nafar., S. Rastgoo y M. Dorostkar. 2013. Effect of foliar application of boron and zinc on qualitative and quantitative fruit characteristics of grapevine (*Vitis vinifera L.*). *International Journal of Agriculture and Crop Sciences* . 6 (9): 485-492.

Nymora, A y P. Brown. 1997. Fall foliar-applied Boron Increases Tissue Boron Concentration and Nut Set of Almond. *Journal American Society for Horticultural*. 122 (3):405-410.

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

Ocampo, J y K. Wyckhuys. 2012. Tecnología para el cultivo de la gulupa (*Passiflora edulis f. edulis* Sims) en Colombia. Centro Bio-Sistemas Universidad Jorge Tadeo Lozano, Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR). Bogotá, Colombia. 68 p.

Odoy, C., G. Monterubbianesi y J. Tognetti, 2008. Analysis of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) fruit growth with exponential mixed models. *Scientia Horticulturae* 115 (4): 368-376.

Ogunwole, A., O. Otusanya, F. Oloyede y T. Olabamiji. 2015. Comparative effects of boron toxicity and deficiency on the growth, chlorophyll, protein and some cations accumulation in *Zea mays* seedlings. *International Journal of Scientific Research and Innovative Technology*. 17(2): 316-335.

Oliveira, R., C. Dias., M. Morales-Dallaqua y C. Rosolem. 2006. Boron Deficiency Inhibits Petiole and Peduncle Cell Development and Reduces Growth of Cotton. *Journal of Plant Nutrition*. 29: 2035–2048.

Orjuela-Baquero, N., S. Campos., J. Sanchez., L. Melgarejo y M. Hernández. Manual de manejo poscosecha de la gulupa (*Passiflora edulis* Sims). 22 p.

Ortiz, D. 2010. Estudio de la variabilidad genética en materiales comerciales de gulupa (*Passiflora edulis f. edulis* Sims) en Colombia. Tesis de Maestría, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá Colombia. 127 p.

Ozturk, M., S. Sackali, S. Gucel y H. Tombuloglu. 2010. Boron and plants. En: Ashraf, M. 2010. *Plant Adaptation and Phytoremediation*. Springer Science Business Media. 275-311p.

Pachón, A., M. Rodriguez y G. Fischer. Efecto del empaque, encerado y temperatura sobre las características fisicoquímicas y organolépticas de la gulupa (*passiflora edulis f. edulis*) en poscosecha. En: Salamanca, G. (ed.). *Propiedades fisicoquímicas y sistemas de procesado: Productos hortofrutícolas en el desarrollo agroalimentario*. Editora Guadalupe, Bogotá. 350 p.

- Pan, Y., Z. Wang., L. Yang., Z. Wang., L. Shi., R. Naran., P. Azadi y F. Xu. 2012. Differences in cell wall components and allocation of boron to cell walls confer variations in sensitivities of *Brassica napus* cultivars to boron deficiency. *Plant Soil*. 354: 383–394.
- Pandey, N y B. Gupta. 2013. The impact of foliar boron sprays on reproductive biology and seed quality of black gram. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 27: 58-64.
- Papadakis, I., K. Dimassi., A. Bosabalidis., I. Therios., A. Patakas y A. Giannakoula. 2004. Effects of B excess on some physiological and anatomical parameters of Navelina orange plants grafted on two rootstocks. *Environmental and Experimental Botany*. 51: 247-257.
- Perez, L. 2013. Evaluación ecofisiológica de gulupa *Passiflora edulis* SIMS, bajo tres condiciones ambientales. Tesis de Maestría, Univerersidad Nacional de Colombia. 137p.
- Pérez-Martínez, L y L. Melgarejo 2015. Photosynthetic performance and leaf water potential of gulupa (*Passiflora edulis* sims, Passifloraceae) in the reproductive phase in three locations in the Colombian Andes.. *Acta Biol. Colomb*. 20 (1), 83-194.
- Pérez-Martínez, L y L. Melgarejo. 2012. Caracterización ecofisiológica de la gulupa (*Passiflora edulis* Sims) bajo tres condiciones ambientales en el departamento de Cundinamarca. Capítulo 1, 11-32p. En: Melgarejo, L (Ed). *Ecofisiología del cultivo de la gulupa Passiflora edulis Sims*. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia. 144p.
- Perica, S., P. Brown., J. Connell., A. Nymora., C. Dordas y H. Hu. 2001. Foliar Boron Application Improves Flower Fertility and Fruit Set of Olive. *Hortscience* 36(4):714–716.
- Pillbeam, D y Kirkby. 1983. The Physiological role of boron in plant. *Journal of plant nutrition*. 6: 563-582.
- Pinho, L., E. Campostrini., P. Monnerat., A. Torres., A. Assis., C. Marciano y Y. Bastos. 2010. Boron deficiency affects gas exchange and photochemical efficiency (JPI test parameters) in green dwarf Coconut. *Journal Plant Nutrition*. 33: 439-451.
- Pinzon, P., G. Fischer y G. Corredor. 2007. Determinación de los estados de madurez del fruto de la gulupa (*Passiflora edulis* Sims.). *Agronomía Colombiana* 25(1): 83-95.

Pongener, A., V. Sagar., R. Pal., R. Asrey., R. Sharma y S. Singh. 2014. Physiological and quality changes during postharvest ripening of purple passion fruit (*Passiflora edulis* Sims). *Fruits*. 69(1): 19-30.

Prado, R., W. Natale y D. Rozane. 2006. Níveis críticos de boro no solo e na planta para cultivo de mudas de maracujazeiro-amarelo. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal. 28 (2): 305-309.

Proexport, 2013. Acuerdo comercial con la Unión Europea. Fascículo coleccionable. Agroindustria, Bogotá. 31p.

Redondo, M., L. Pulido., M. Reguera., I. Bonilla y L. Bolaños. 2007. Developmentally regulated membrane glycoproteins sharing antigenicity with rhamnogalacturonan II are not detected in nodulated boron deficient *Pisum sativum*. *Plant, Cell and Environment*. 30: 1436–1443.

Reid, R., J. Hayes., A. Post., J. Stangoulis y R. Graham. 2004. A critical analysis of the causes of boron toxicity in plants. *Plant Cell Environ*. 25, 1405-1414.

Rodrigo, J., J. Hormanza y M. Herrero. 2000. Ovary starch reserves and flower development in apricot (*Prunus armeniaca*). *Physiologia plantarum*. 108 (1): 35-41p.

Rodríguez-Castillo, N y L. Melgarejo. 2015. Caracterización ecofisiológica de la granadilla (*Passiflora ligularis* Juss) bajo dos condiciones ambientales en el departamento del Huila. *Granadilla (Passiflora ligularis* Juss.): caracterización ecofisiológica del cultivo. Bogotá, Colombia, 17-52 p. Universidad Nacional de Colombia y CEPASS, Bogotá, Colombia.

Rulm, M y T. Vulic. 2005. Importance of phenological observations and predictions in agriculture. *Journal of Agricultural Sciences*. 50 (2): 217-225.

Ruuhola, T., M. Keinaene., S. Keski y T. Letho. 2011. Boron nutrition affects the carbon metabolism of silver birch seedlings. *Tree Physiology*. 31: 1251–1261.

Salazar-Parra, C., J. Aguirreolea., M. Sánchez-Díaz., J. Irigoyen y F. Morales. 2012. Photosynthetic response of Tempranillo grapevine to climate change scenarios. *Annals of Applied Biology*, 161(3): 277-292.

Salustriano, R., G. Barbosa., A. Souza., M. Monteiro., I. Lucena y J. Osajima. 2015. Nutrient concentrations and Leaf Chlorophyll of Yellow Passion Fruit Seedlings as a functions of substrate Composition an boron. *Journal plant nutrition*. 38: 1984-1994.

Santos, A y D. Manjarrez. 2000. Fertilizacion foliar, un respaldo importante en el rendimiento de los cultivos. *Revista Terra*. (17): 3. 247-255.

Sarkar, D., B. Mandal y M. Kundu. 2007. Increasing use efficiency of boron fertilisers by rescheduling the time and methods of application for crops in India. *Plant and soil*. 301 (1-2): 77.85.

Sarrwy, S., E. Mostafa y H. Hassan. 2012. Growth, yield and fruit quality of Williams banana as affected by different planting distances. *International Journal of Agricultural Research*. 7: 266-275.

Schotsmans, W y G. Fischer. 2011. Passion fruit (*Passiflora edulis* Sims). 125-144 p. En: Yahia, E. (ed). *Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits. Mangosteen to white sapote*. Woodhead Publ. Cambridge, U.K. 4 (7): 125-142 p.

Shalan, A. 2013. Impact of boric acid spraying date with different concentrations on yield and fruit quality of *Pyrus communis* cv. 'le-conte' pear trees. *Journal Plant Production, Mansoura*. 4 (10): 1479-1491.

Sheng, O., G. Zhou., Q. Wei., S. Pheng y X. Deng. 2010. Effects of excess boron on growth, gas exchange, and boron status of four orange scion–rootstock combinations. *Journal Plant Nutrition Soil Science*. 173: 469–476.

Singh, D., J. Beloy., J. McInerne y L. Day. 2012. Impact of boron, calcium and genetic factor son vitamin C, carotenoids, phenolic acids, anthocyanins and antioxidant capacity of carrots (*Daucus carota*). *Food Chemistry*. 132: 1161-1170.

Singh, R., R. Sharma y S. Tyagi. 2007. Pre-harvest foliar application of calcium and boron influences physiological disorders, fruit yield and quality of strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.). *Scientia Horticulturae* 112 (2):215-220.

Solarte, M., L. Pérez y L. Melgarejo. 2010. Ecofisiología vegetal. Experimentos en fisiología vegetal. Bogotá, Colombia, 137-166 p. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.

Somogyi, M. 1952. Notes of sugar determination. *Journal Biology Chemistry*. 195:19-23.

Sotiropoulos, T., I. Therios., K. Dimassi., A. Bosabalidis y G. Kofidis. 2002. Nutritional status, growth, CO₂ assimilation, and leaf anatomical responses in two kiwifruit species under boron toxicity. *Journal of Plant Nutrition*. 25 (6): 1249–1261.

Sotomayor, C., P. Norambuena y R. Ruiz. 2010. Boron dynamics related to fruit growth and seed production in kiwifruit (*Actinidia deliciosa*, cv. Hayward). *Ciencia e Investigación Agraria*. 37(1): 133-141.

Sousa, G., J. Novelino., S. Scalón y M. Marhetti. 2001. Crescimento de mudas de maracujazeiro em função de adubação à base de boro e material de cupinzeiro. *Pesquisa Agropecuaria Tropical*., Goiânia. 41 (2): 170-178.

Sousa, G., J. Novelino., S. Scalón y M. Marhetti. 2001. Crescimento de mudas de maracujazeiro em função de adubação à base de boro e material de cupinzeiro. *Pesquisa Agropecuaria Tropical*. 41 (2): 170-178.

Stavrianakou, S., G. Liakopoulos y G. Karabourniotis. 2006. Boron deficiency effects on growth, photosynthesis and relative concentrations of phenolics of *Dittrichia viscosa* (Asteraceae). *Environmental and Experimental Botany*. 56: 293-300.

Sui, X., S. Bary y W. Zhou. 2016. Changes in the color, chemical stability and antioxidant capacity of thermally treated anthocyanin aqueous solution over storage. *Food Chemistry*, 192: 516-524.

Taiz, L y E. Zeiger. 2006. *Plant physiology*. 2nd ed. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts. 764 p.

Takano, J., K. Miwa y T. Fujiwara. 2008. Boron transport mechanisms: collaboration of channels and transporters. *Trends Plant Science*. 13(8), 451-457.

- Talaie, A y M. Taheri. 2001. The effect of foliar spray with N, Zn and B on the fruit set and cropping of Iranian local olive trees. *Acta Horticulturae*. 564: 343-348 p.
- Tanaka, M y F. Fujiwara. 2008. Physiological roles and transport mechanisms of boron: perspectives from plants. *European Journal Physiology*. 456: 671–677.
- Tanaka, N., S. Uraguchi., A. Saito., M. Kajiwara., K. Kasai., Y. Sato., Y. Nagumara y T. Fujiwara. 2013. Roles of Pollen-Specific Boron Efflux Transporter, OsBOR4, in the Rice Fertilization Process. *Plant Cell Physiology*. 54(12): 2011–2019.
- Tang, N., H. Jiang., L. Yang., Q. Li., G. Yang y L. Chen. 2011. Boron-aluminum interactions affect organic acid metabolism more in leaves than in roots of *Citrus grandis* seedlings. *Biologia Plantarum*. 55 (4): 681-688.
- Tewari, R., P. Kumar y P. Sharma. 2009. Morphology and oxidative physiology of boron-deficient mulberry plants. *Tree Physiology*. 30: 68-77.
- Turan, M., C. Kayihan., F. Eyidogan., Y. Ekmekci., M. Yucel y H. Oktem, H. 2014. Evaluation of photosynthetic performance of wheat cultivars exposed to boron toxicity by the JIP fluorescence test. *Photosynthetica*. 52(4): 555-563.
- Velásquez, J., L. Melgarejo y S. Magnitskiy. 2012. Ecofisiología del cultivo de la gulupa (*Passiflora edulis* Sims.). Capítulo 4: Tratamientos pre-germinativos en semillas de gulupa (*Passiflora edulis* Sims.). Universidad Nacional de Colombia. 81-89 p.
- Wang, Z., Z. Wang., L. Shi., L. Wang y F. Xu. 2010. Proteomic alterations of Brassica napus root in response to boron deficiency. *Plant Molecular Biology*. 4: 265-278.
- Wells, M y P. Conner. 2008. Effects of Foliar-applied Boron on Fruit Retention, Fruit Quality, and Tissue Boron Concentration of Pecan. *HortScience*. 43 (3): 696–699.
- Will, S., T. Eichert., V. Fernandez., J. Mohring., T. Muller y V. Romheld. 2011. Absorption and mobility of foliar-applied boron in soybean as affected by plant boron status and application as a polyol complex. *Plant Soil*. 344:283–293.
- Wimer, M y T. Eichert. 2013. Review: Mechanisms for boron deficiency-mediated changes in plant water relations. *Plant Science* 203– 204: 25– 32.

Winsor, C. 1932. The Gompertz curve as a growth curve. Proceedings of the national academy of sciences. 18(1): 1-8.

Wojcik, P y J. Filipczak. 2015. Response of 'White Smith' gooseberry to boron fertilisation under conditions of low soil boron availability. Scientia Horticulturae 197: 366–372.

Wojcik, P y M. Wojcik. 2003. Effects of boron fertilization on conference pear tree vigor nutrition, and fruit yield and storability. Plant and soil. 256:413-421.

Wojcik, P. 2004. Uptake of mineral nutrients from foliar fertilization (review). Journal of Fruit and Ornamental Plant Research. Special ed. 12: 201-218.

Wojcik, P., M. Wojcik y K. Klamkowski. 2008. Response of apple trees to boron fertilization under conditions of low soil boron availability. Scientia Horticulturae 116: 58–64.

Yaacoubi, A., G. Malagi., A. Oukabli., M. Hafidi y J. Legeve. 2014. Global warming impact on floral phenology of fruit trees species in Mediterranean region. Scientia Horticulturae 180: 243–253.

Yadav, V., P. Singh y P. Yadav. 2013. Effect of foliar fertilization of boron, zinc and iron on fruit growth and yield of low-chill peach cv. Sharbati. International Journal of Scientific and Research Publications. 3 (8): 223-232.

Yusuf, M., Q. Fariduddin y A. Ahmad. 2011. 28-Homobrassinolide mitigates boron induced toxicity through enhanced antioxidant system in *Vigna radiata* plants. Chemosphere. 85: 1574-1584.

Zhao, D y D. Oosterhui. 2002. Cotton carbon exchange, nonstructural carbohydrates, and boron distribution in tissues during development of boron deficiency. Field Crops Research. 78: 75–87.

Anexos

Anexo A1. Estados fenológicos que se trabajaron durante la aplicación de las soluciones foliares con B.



Anexo A2 Análisis de suelo finca Bellavista, vereda San Pablo, Pasca



UNIVERSIDAD

ECCI

REPORTE DE RESULTADOS N°. 12

Bogotá D.C., Julio 16 de 2015

Orden N° 011

Datos del Cliente

Luz Marina Melgarejo

Universidad Nacional de Colombia

lmmelgarejom@unal.edu.co

Identificación de la Muestras

Matriz: Suelo

Lugar de Muestreo: Finca 4, Lote 2-horizonte A, Pasca, Cundinamarca

Cultivo: Aguacate

Fecha de Recepción de Muestra: 2015/07/03

Fecha de Análisis de Muestra: 2015/07/06 - 2015/07/16

Parámetro	Unidades	Resultado	Técnica analítica	
pH	----	4.47	Potenciométrico NTC - 5264 Calidad del suelo. Determinación de pH	
Carbono orgánico	%	2.78	Colorimétrica NTC - 5403 Calidad del suelo. Determinación de carbono orgánico total	
Bases intercambiables	Ca K Mg Na	(meq/100g)	8.74	Absorción atómica. NTC - 5349 Calidad del suelo. Determinación de las bases intercambiables: los cationes calcio, magnesio, sodio y potasio. Método de extracción con acetato amonio 1 n y pH 7.
			0.31	
			2.02	
			< 0,004	
CICE	(meq/100g)	10.96	Estimado por suma de bases y acidez intercambiables NTC 5268 Calidad de suelo. Determinación de la capacidad de intercambio catiónico	
Acidez de intercambio	(meq/100g)	0.56	Volumétrico. NTC 5263 - Calidad del suelo. Determinación de la acidez intercambiable.	
Fósforo disponible	(mg/kg)	0.34	Colorimétrico NTC 5330 - Calidad de suelo. Determinación de fósforo disponible - Método de Bray II - reducción con cloruro estañoso	
Azufre disponible	(mg/kg)	24.56	Turbidimétrico NTC 5402 - Calidad del suelo. Determinación del azufre disponible.	
Micronutrientes	Cu Fe Mn Zn B	(mg/kg)	0.033	Absorción atómica. NTC - 5526 Calidad de suelo. Determinación de micronutrientes disponibles: cobre, zinc, hierro y manganeso
			2.51	
			0.18	
			0.17	
			0.14	
Arcilla	%	46	Densimétrica.	
Limo		28		
Arena		26		
textura	----	Arcilla	Triángulo de clasificación textural USDA	
Densidad aparente	g/cm ³	0.93	Método del cilindro	

PBX: (57 1) 3 53 71 71 info@ecc.edu.co Cra 19 No. 49 -20 Bogotá D.C. - Colombia

www.ecci.edu.co

Universidad ECCI
 @UniversidadECCI
 Universidad ECCI



INSTITUCIÓN DE EDUCACIÓN SUPERIOR VIGILADA POR EL M.E.N. Resolución No. 13370 de 19 de Agosto de 2014 Otorgada por el M.E.N. NIT. 860.401.496-0

Anexo A3. Plan de fertilización para cultivo de gulupa en la finca Bellavista, Pasca-Cundinamarca, para los dos ciclos productivos.

Fertilización	Producto comercial	Cantidad kg ha ⁻¹	kg ha ⁻¹											
			N	P ₂ O ₅	K ₂ O	CaO	MgO	S	B	Zn	Cu	Fe		
1	Urea	50	23.00											
	KCl	70			42									
	Triple 15	40	6	6	6									
	Agrimins	150	12	7.5		27	9	2.4	1.5	3.75				
2	Triple 15	50	7.5	7.5	7.5									
	Hidrocomplex	50	6.2	5.7	8.7	1.325	1.25	0.075	0.1				1	
3	Triple 15	60	9	9	9									
	Hidrocomplex	40	4.96	4.56	6.96	1.06	1	0.06	0.08				0.8	
4	Nitrato de Ca	30	4.5			7.8								
	Hidrocomplex	60	7.44	6.84	10.44	1.59	1.5	0.09	0.12				1.2	
5	Triple 15	50	7.5	7.5	7.5									
	Nitrato de Ca	30	4.5			7.8								
	Agrimins	60	4.8	3		10.8	3.6	0.96	0.6	1.5				
6	Urea	40	18.4											
	KCl	50			30									
	Triple 15	50	7.5	7.5	7.5									
	Nitrato de Ca	30	4.5			7.8								
7	Soil	50	0	1.5			10	5	0.75	1.6	0	0		
	Hidrocomplex	40	4.96	4.56	6.96	1.06	1	0.06	0.08				0.8	
TOTAL			132.76	71.16	142.56	61.20	27.64	13.11	3.14	7.23	0.00	3.80		

Fertilizantes foliares usados en el cultivo de gulupa:

Fertilización	Producto comercial	Dosis
3	Sulfato de magnesio	3g l ⁻¹
4	Sulfato de magnesio	3g l ⁻¹
	Calbit C	2.5cc l ⁻¹
5	Sulfato de magnesio	3g l ⁻¹
	Calbit C	2.5cc l ⁻¹
6	Sulfato de magnesio	3g l ⁻¹

Anexo B. Productos fitosanitarios usados para manejo de plagas y enfermedades en cultivo de gulupa.

Producto comercial	Ingrediente activo	Dosis (g-cc/l)
Trichodermus	<i>Trichoderma harzianum</i>	1,0
Agrodyne	Yodo	1,5
Oxicloruro de cobre	Oxicloruro de cobre	1,5
Exalt	Spinetoram, Spinosyn	0,5
Tracer	Spinosad	0,6
Engeo	Tiametoxam, lambdacihalotrina	0,6
Safermix	<i>Beauveria bassiana</i> , <i>Metarhizium anisopliae</i> , <i>Lecanicillium lecanii</i> y <i>Bacillus thuringiensis</i>	1,0
Carrier	ácidos carboxílicos insaturados y glicéridos saturados	1,5
Agrotin	Polisacáridos, alcoholes polivinílicos, siliconas, sustancias reguladoras del pH	3,0

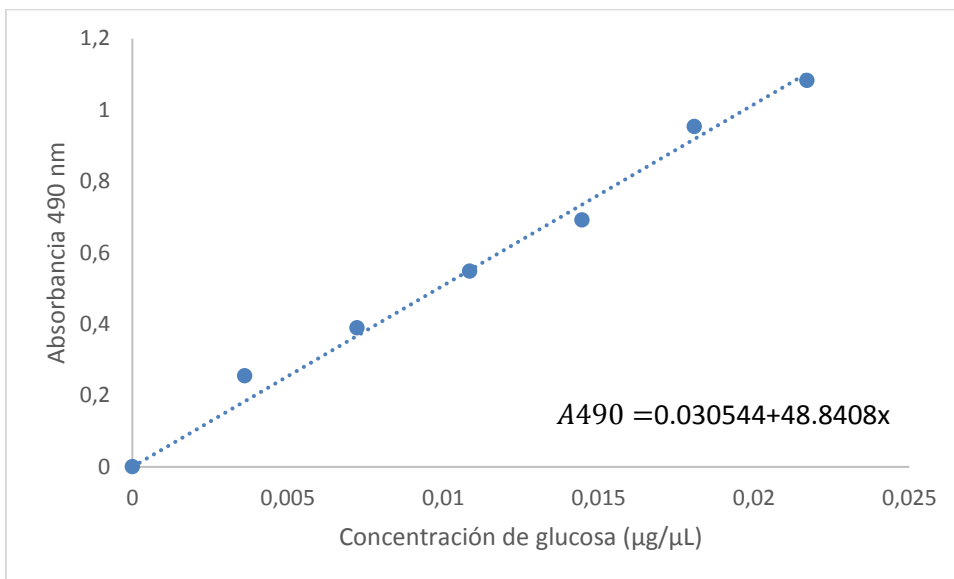
Anexo C1. Datos del clima presentados para el primer ciclo productivo de cultivo de gulupa en Pasca, Cundinamarca.

MES	T° Media (°C)	HR (%)	PAR (μmoles de fotones m ⁻² s ⁻¹)	T°Mín (°C)	T°Max (°C)	HR Mín (%)	HR Max (%)	DPV (kPa)
Enero	18.75	77.32	388.12	13.16	26.16	48.72	100.00	0.71
Febrero	18.78	82.23	349.76	12.36	25.80	50.68	100.00	0.67
Marzo	18.93	84.14	394.54	13.84	26.08	55.78	100.00	0.61
Abril	17.97	90.28	307.72	13.36	25.96	54.82	100.00	0.62
Mayo	17.46	91.16	385.89	13.08	23.76	68.80	100.00	0.38
Promedio	18.38	85.03	365.21	13.16	25.55	55.76	100.00	0.60

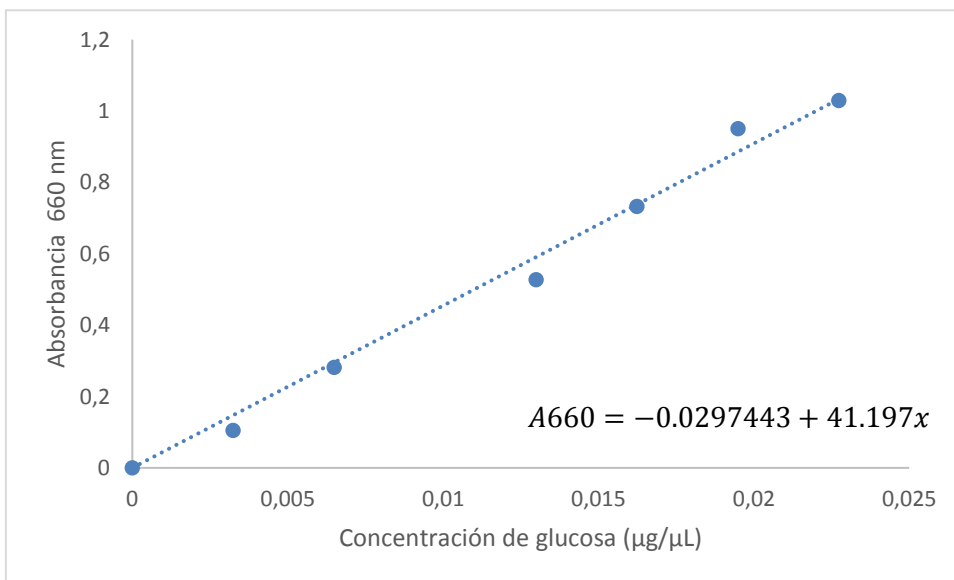
Anexo C2. Datos del clima presentados para el segundo ciclo productivo de cultivo de gulupa en Pasca, Cundinamarca.

MES	T° Media (°C)	HR (%)	PAR (μmoles de fotones m ⁻² s ⁻¹)	T°Mín (°C)	T°Max (°C)	HR Mín (%)	HR Max (%)	DPV (kPa)
Agosto	17.68	82.14	392.50	12.40	25.76	43.80	100.00	0.76
Septiembre	18.77	72.47	447.96	11.52	26.56	35.95	99.22	0.91
Octubre	18.02	81.54	391.05	12.88	25.28	49.90	100.00	0.66
Noviembre	17.60	87.80	307.46	12.84	24.20	55.58	100.00	0.55
Diciembre	18.36	75.78	372.12	12.16	26.72	44.65	96.32	0.81
promedio	18.09	79.95	382.22	12.36	25.70	45.98	99.11	0.74

Anexo D1. Curva de calibración para la determinación de azúcares totales en hojas de gulupa.



Anexo D2. Curva de calibración para la determinación de azúcares reductores en hojas de gulupa.



Anexo E1. Análisis foliar del cultivo de gulupa para el primer ciclo productivo.



REPORTE DE RESULTADOS N°. 14

Bogotá D.C., abril 20 de 2016

Orden N° 022
Datos del Cliente
 Universidad Nacional
 Luz Marina Melgarejo
 Immelgarejo@unal.edu.co

Identificación de la Muestra

Matriz: Foliar Gulupa
 Número de Muestras: 4
 Lugar de Muestreo: N/A
 Fecha de Recepción de Muestra: 2016/04/01
 Fecha de Análisis de Muestra: 2016/04/01 - 2016/04/20

PARÁMETROS	UNIDADES	TECNICA ANALITICA	MÉTODO	Tratamiento 100%	Tratamiento 50%	Tratamiento 0%	Tratamiento 150%
FOSFORO	%	colorimétrica	Metavanadato	0.45	0.41	0.52	0.51
CALCIO	g/Kg	E.A.A	TOP wave 84 - 09 e -SM 3111 D	14,6	8,4	12,5	8,9
MAGNESIO	mg/Kg	E.A.A	TOP wave 84 - 09 e -SM 3111 B	0,99	0,85	1,17	0,94
POTASIO	g/Kg	E.A.A	TOP wave 84 - 09 e -SM 3111 B	8,7	7,8	7,5	4,4
AZUFRE	%	Turbidimétrica	Sulfato de Bario	0.35	0.28	0.41	0.36
BORO	mg/Kg	E.A.A	TOP wave 84 - 09 e -SM 3111 D	15.4	10.5	5.56	17.2
COBRE	mg/Kg	E.A.A	TOP wave 84 - 09 e -SM 3111 B	< 0,169	< 0,169	< 0,169	6,21
HIERRO	mg/Kg	E.A.A	TOP wave 84 - 09 e -SM 3111 B	196,3	48,3	62,4	54,9
MANGANESO	mg/Kg	E.A.A	TOP wave 84 - 09 e -SM 3111 B	68,6	56,0	54,6	71,7
MOLIBDENO	mg/Kg	E.A.A	TOP wave 84 - 09 e -SM 3111 B	<1,7	<1,7	<1,7	<1,7
SODIO	mg/Kg	E.A.A	TOP wave 84 - 09 e -SM 3111 B	68,6	56,0	54,6	71,7
ZINC	mg/Kg	E.A.A	TOP wave 84 - 09 e -SM 3111 B	21,9	19,3	22,3	28,1

PBX: (57 1) 3 53 71 71 info@ecc.edu.co Cra 19 No. 49 -20 Bogotá D.C. - Colombia

www.ecci.edu.co



Universidad ECCI

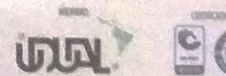


@UniversidECCI



Universidad ECCI

INSTITUCIÓN DE EDUCACIÓN SUPERIOR VIGILADA POR EL M.E.N. Resolución No. 13370 de 19 de Agosto de 2014 Otorgada por el M.E.N. NIT. 900.401.490-0



Anexo E2. Análisis foliar del cultivo de gulupa para el segundo ciclo productivo.

Los tratamientos corresponden: Gulupa azul: T0; Gulupa amarillo: T50; Gulupa verde: T100; Gulupa rojo: T150.

No. DE LABORATORIO	IDENTIFICACIÓN DE CAMPO	PORCENTAJE (%)					PARTES POR MILLÓN (mg/kg)				
		CALCIO	MAGNESIO	POTASIO	FOSFORO	NITRÓGENO	MANGANESO	HIERRO	ZINC	COBRE	BORO
MQ1-20961	MUESTRA 9 AGUACATE ZN T-BLANCO	0.69	0.29	1.62	0.07	2.98	365.63	43.68	25.13	33.98	48.37
MQ1-20962	MUESTRA 10 AGUACATE ZN T-ROJO	0.85	0.29	1.94	0.07	2.85	475.32	37.12	138.02	23.74	44.10
MQ1-20963	MUESTRA 11 AGUACATE ZN T-AZUL	0.57	0.27	1.71	0.07	3.29	711.15	58.08	112.85	21.84	38.82
MQ1-20964	MUESTRA 12 AGUACATE ZN T-MORADO	0.71	0.31	1.55	0.06	3.17	859.65	49.94	288.34	15.30	48.70
MQ1-20965	MUESTRA 13 AGUACATE ZN T-CAFE	0.70	0.26	1.76	0.06	2.94	540.22	37.39	480.30	22.79	44.30
MQ1-20966	MUESTRA 14 GULUPA B T-VERDE	0.97	0.13	1.70	0.11	4.92	7.48	140.88	23.52	8.75	75.87
MQ1-20967	MUESTRA 15 GULUPA B T-AZUL	1.77	0.11	1.55	0.09	3.57	119.65	61.95	26.27	7.44	68.13
MQ1-20968	MUESTRA 16 GULUPA B T-ROJO	2.01	0.11	1.90	0.08	4.00	130.85	52.99	37.72	8.52	73.00

No. DE LABORATORIO	IDENTIFICACIÓN DE CAMPO	PORCENTAJE (%)					PARTES POR MILLÓN (mg/kg)				
		CALCIO	MAGNESIO	POTASIO	FOSFORO	NITRÓGENO	MANGANESO	HIERRO	ZINC	COBRE	BORO
MQ1-20969	MUESTRA 17 GULUPA B T-AMARRILLO	1.43	0.06	1.88	0.09	3.52	53.59	55.29	21.20	5.23	70.65