



UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
NÚCLEO DE SUCRE  
ESCUELA DE CIENCIAS  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA

EFECTO DE *Funneliformis mosseae* y *Diversispora spurca* SOBRE EL  
CRECIMIENTO Y DESARROLLO DE PLANTAS DE PARCHITA *Passiflora edulis*  
Sims. BAJO CONDICIONES DE VIVERO  
(Modalidad: Tesis de grado)

BEATRIZ CAROLINA BERGAMO RONDÓN

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA  
OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADA EN BIOLOGÍA

CUMANÁ, 2013

EFFECTO DE *Funneliformis mosseae* y *Diversispora spurca* SOBRE EL  
CRECIMIENTO Y DESARROLLO DE PLANTAS DE PARCHITA *Passiflora edulis*  
Sims. BAJO CONDICIONES DE VIVERO

APROBADO POR:

---

Prof. Isabel Mimbela de Loroño  
(Asesora)

---

Jurado

---

Jurado

## INDICE GENERAL

DEDICATORIA .....	i
AGRADECIMIENTOS .....	ii
LISTA DE TABLAS .....	iii
LISTA DE FIGURAS .....	iv
LISTA DE TABLAS DEL APÉNDICE .....	vi
RESUMEN .....	vii
INTRODUCCIÓN .....	1
METODOLOGÍA .....	7
Ubicación del ensayo .....	7
Material vegetal .....	7
Manipulación y análisis del suelo .....	7
Inóculo HMA .....	7
Aplicación de tratamientos y siembra .....	8
Diseño experimental .....	8
Evaluación del crecimiento y desarrollo de la parte área de las plantas .....	9
Altura .....	9
Número de hojas .....	9
Grosor de la base del tallo .....	9
Área foliar .....	9
Contenido de fósforo foliar .....	10
Porcentaje de infección micorrízica .....	10
Aislamiento e identificación de los HMA presentes en el inóculo nativo .....	12
Análisis estadísticos .....	12
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	13
Análisis físico-químico del suelo .....	13
Evaluación del crecimiento y desarrollo de la parte aérea de las plantas .....	15
Altura .....	16
Número de hojas .....	18
Contenido de fósforo foliar .....	26
Porcentaje de infección micorrízica .....	29
Frecuencia de micorrización (%F) .....	29
Identificación de los HMA presentes en el inóculo nativo .....	33
CONCLUSIONES .....	37
RECOMENDACIÓN .....	38
BIBLIOGRAFÍA .....	39
APÉNDICE .....	49
HOJA DE METADATOS .....	52

## **DEDICATORIA**

A Dios, por darme la oportunidad de vivir, por cuidarme y guiarme, por llenarme amor y de fortaleza para alcanzar mis metas.

A mi mamá, por estar presente en todo momento, por su amor y comprensión en cada una de las etapas de mi vida, por su fortaleza ante cualquier circunstancia, por confiar en mí, por el apoyo y sacrificios para lograr la culminación con éxito de mis estudios.

A la memoria de mi papá, que siempre estará en mi corazón, quien con su ejemplar espíritu luchador de constancia y trabajo, me inspira a seguir adelante para alcanzar mis metas.

A mis hermanas y hermanos, por acompañarme en este arduo camino y por brindarme su apoyo.

A mis sobrinas y sobrinos como ejemplo de voluntad y persistencia a lo largo de sus vidas estudiantiles.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Profa. Isabel Mimbela de Loroño, por darme oportunidad de trabajar como su tesista, por su apoyo, comprensión y paciencia, por su orientación y colaboración, durante todo el desarrollo de esta investigación.

A todos mis profesores del Departamento de Biología por la preparación recibida durante todos estos años, por sus enseñanzas y motivación, en especial a los profesores Rossana Valerio, Víctor Franco, María Alejandra Balza, Carmen Martins y Pablo Cornejo por su amistad y cariño.

A los profesores José Véliz y Víctor Franco, por el apoyo y colaboración, en la determinación de la concentración de fósforo foliar.

Al Dr. Jesús Méndez Natera, de la escuela de Ingeniería Agronómica, Núcleo Monagas, por contribución en los análisis estadísticos.

Al profesor Ángel Marcano, por facilitar el uso de equipo necesario para la determinación de fósforo foliar.

A los profesores Edgar García y Robert Malavé, del IUT de Cariaco, por su colaboración en el análisis de las propiedades físico-químicas del suelo.

A mis amigas y amigos, por su cariño, consejos y apoyo, que me permitieron mantener la confianza y las energías, para culminar exitosamente mi carrera.

Y a todas aquellas personas que de alguna manera colaboraron en la realización del trabajo.

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1: Tratamientos utilizados en el ensayo.....	8
Tabla 2. Análisis físicoquímico del suelo original. ....	13

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema del montaje de raíces teñidas en azul de tripano en láminas portaobjetos.....	11
Figura 2. Crecimiento y desarrollo a cosecha (semana 13) de <i>Passiflora edulis</i> sometida a diferentes tratamientos. A: control; B: 25 mg kg <sup>-1</sup> de fósforo (P); C: <i>Funneliformis mosseae</i> + <i>Diversispora spurca</i> (F+D); D: 25 mg kg <sup>-1</sup> P + <i>Funneliformis mosseae</i> + <i>Diversispora spurca</i> [P+(F+D)]; E: inoculo nativo (IN); F: 25 mg kg <sup>-1</sup> P + inoculo nativo (P+IN).....	15
Figura 3. Zarcillo desarrollado en planta de <i>Passiflora edulis</i> inoculadas con HMA. ....	16
Figura 4. Variación temporal de la altura (A), altura durante el periodo de observación semanal (B) y altura a cosecha (C) de <i>Passiflora edulis</i> sometida a diferentes tratamientos. IN: inoculo nativo; (F+D): <i>Funneliformis mosseae</i> + <i>Diversispora spurca</i> ; P: 25 mg kg <sup>-1</sup> de fósforo (P); P+IN: 25 mg kg <sup>-1</sup> P + inoculo nativo; P+(F+D): 25 mg kg <sup>-1</sup> P + <i>Funneliformis mosseae</i> + <i>Diversispora spurca</i> ; control. Los valores son los promedios ± ES (n=6 para A y C; n=42 para B). Las letras sobre las barras indican diferencias entre tratamientos .....	17
Figura 5. Variación temporal del número de hojas (A), número de hojas durante el periodo de observación semanal (B) y número de hojas a cosecha (C) de <i>Passiflora edulis</i> sometida a diferentes tratamientos. IN: inoculo nativo; (F+D): <i>Funneliformis mosseae</i> + <i>Diversispora spurca</i> ; P: 25 mg kg <sup>-1</sup> de fósforo (P); P+IN: 25 mg kg <sup>-1</sup> P + inoculo nativo; P+(F+D): 25 mg kg <sup>-1</sup> P + <i>Funneliformis mosseae</i> + <i>Diversispora spurca</i> ; control. Los valores son los promedios ± ES (n=6 para A y C; n=42 para B). Las letras sobre las barras indican diferencias entre tratamientos. ....	20
Figura 6. Variación temporal del grosor de la base del tallo (A), grosor durante el periodo de observación semanal (B) y grosor a cosecha (C) de <i>Passiflora edulis</i> sometida a diferentes tratamientos. IN: inoculo nativo; (F+D): <i>Funneliformis mosseae</i> + <i>Diversispora spurca</i> ; P: 25 mg kg <sup>-1</sup> de fósforo (P); P+IN: 25 mg kg <sup>-1</sup> P + inoculo nativo; P+(F+D): 25 mg kg <sup>-1</sup> P + <i>Funneliformis mosseae</i> + <i>Diversispora spurca</i> ; control. Los valores son los promedios ± ES (n=6 para A y C; n=42 para B). Las letras sobre las barras indican diferencias entre tratamientos.....	22
Figura 7. Área foliar a cosecha (semana 13) de <i>Passiflora edulis</i> sometida a diferentes tratamientos. IN: inoculo nativo; (F+D): <i>Funneliformis mosseae</i> + <i>Diversispora spurca</i> ; P: 25 mg kg <sup>-1</sup> de fósforo (P); P+IN: 25 mg kg <sup>-1</sup> P + inoculo nativo; P+(F+D): 25 mg kg <sup>-1</sup> P + <i>Funneliformis mosseae</i> + <i>Diversispora spurca</i> ; control. Los valores son los promedios ± ES (n=6). Las letras sobre las barras indican diferencias entre tratamientos. ....	23
Figura 8. Biomasa seca aérea a cosecha (semana 13) de <i>Passiflora edulis</i> sometida a diferentes tratamientos. IN: inoculo nativo; (F+D): <i>Funneliformis mosseae</i> + <i>Diversispora spurca</i> ; P: 25 mg kg <sup>-1</sup> de fósforo (P); P+IN: 25 mg kg <sup>-1</sup> P + inoculo nativo; P+(F+D): 25 mg kg <sup>-1</sup> P + <i>Funneliformis mosseae</i> + <i>Diversispora spurca</i> ; control. Los valores son los promedios ± ES (n=6). Las letras sobre las barras indican diferencias entre tratamientos.....	25

Figura 9. Contenido de fósforo foliar a cosecha (semana 13) de <i>Passiflora edulis</i> sometida a diferentes tratamientos. IN: inoculo nativo; (F+D): <i>Funneliformis mosseae</i> + <i>Diversispora spurca</i> ; P: 25 mg kg <sup>-1</sup> de fósforo (P); P+IN: 25 mg kg <sup>-1</sup> P + inoculo nativo; P+(F+D): 25 mg kg <sup>-1</sup> P + <i>Funneliformis mosseae</i> + <i>Diversispora spurca</i> ; control. Los valores son los promedios ± ES (n=6). Las letras sobre las barras indican diferencias entre tratamientos.....	27
Figura 10. Frecuencia de micorrización a cosecha (semana 13) de <i>Passiflora edulis</i> sometida a diferentes tratamientos. IN: inoculo nativo; (F+D): <i>Funneliformis mosseae</i> + <i>Diversispora spurca</i> ; P: 25 mg kg <sup>-1</sup> de fósforo (P); P+IN: 25 mg kg <sup>-1</sup> P + inoculo nativo; P+(F+D): 25 mg kg <sup>-1</sup> P + <i>Funneliformis mosseae</i> + <i>Diversispora spurca</i> ; control. Los valores son los promedios ± ES (n=6). Las letras sobre las barras indican diferencias entre tratamientos.....	30
Figura 11. Riqueza arbuscular total a cosecha (semana 13) de <i>Passiflora edulis</i> sometida a diferentes tratamientos. IN: inoculo nativo; (F+D): <i>Funneliformis mosseae</i> + <i>Diversispora spurca</i> ; P: 25 mg kg <sup>-1</sup> de fósforo (P); P+IN: 25 mg kg <sup>-1</sup> P + inoculo nativo; P+(F+D): 25 mg kg <sup>-1</sup> P + <i>Funneliformis mosseae</i> + <i>Diversispora spurca</i> ; control. Los valores son los promedios ± ES (n=6). Las letras sobre las barras indican diferencias entre tratamientos.....	31
Figura 12. Esporas presentes en el inoculo nativo. A: <i>Acaulospora</i> cf. <i>bireticulata</i> ; .....	34

## LISTA DE TABLAS DEL APÉNDICE

	Pág.
1 Análisis de varianza de la altura (cm) semanal (7-13 semanas) de <i>Passiflora edulis</i> sometida a diferentes tratamientos.....	49
2 Análisis de varianza de la altura (cm) a cosecha (semana 13) de las plantas de <i>Passiflora edulis</i> sometida a diferentes tratamientos (Datos transformados mediante 1/X).....	49
3 Análisis de varianza del número de hojas totales semanal (7-13 semanas) de <i>Passiflora edulis</i> sometida a diferentes tratamientos.....	49
4 Análisis de varianza a cosecha para el número de hojas de las plantas de <i>Passiflora edulis</i> sometida a diferentes tratamientos.....	50
5 Análisis de varianza del grosor (mm) semanal (7-13 semanas) de <i>Passiflora edulis</i> sometida a diferentes tratamientos.....	50
6 Análisis de varianza del grosor de la base del tallo (mm) a cosecha de <i>Passiflora edulis</i> sometida a diferentes tratamientos.....	50
7 Análisis de varianza del área foliar (cm <sup>2</sup> ) a cosecha de <i>Passiflora edulis</i> sometida a diferentes tratamientos .....	50
8 Análisis de varianza de la biomasa seca aérea (g) a cosecha de <i>Passiflora edulis</i> sometida a diferentes tratamientos.....	51
9 Análisis de varianza del contenido de P foliar a cosecha de <i>Passiflora edulis</i> sometida a diferentes tratamientos.....	51
10 Análisis de varianza de la frecuencia de micorrización a cosecha de <i>Passiflora edulis</i> sometida a diferentes tratamientos.....	51
11 Análisis de varianza de la riqueza arbuscular a cosecha de <i>Passiflora edulis</i> sometida a diferentes tratamientos.....	51

## RESUMEN

Los hongos formadores de micorrizas arbusculares (HMA) están siendo aplicados como biofertilizantes para el aumento de la producción de rubros agrícolas de gran demanda. La parchita (*Passiflora edulis* Sims.), es un cultivo muy apreciado a nivel mundial debido a la gran importancia como producto fresco o procesado; sin embargo, no se han reportado estudios de su interacción con estos simbioses bajo las condiciones edafoclimáticas del estado Sucre. Por tal motivo, se evaluó el efecto de un inóculo nativo y de un inóculo comercial formado por combinación de dos especies de HMA (52% *Funneliformis mosseae* y 48% *Diversispora spurca*), además, de la aplicación de 25 mg kg<sup>-1</sup> de fósforo inorgánico y la combinación de éste con el inóculo nativo y con los inóculos comerciales sobre el crecimiento y desarrollo de la parchita. Algunas plantas se mantuvieron durante el experimento solo con suelo de vivero esterilizado (control). A partir de la séptima semana después de emergencia, se midió semanalmente hasta el momento de la cosecha, la altura, número de hojas y grosor de la base del tallo. Adicionalmente, al final del experimento (13<sup>ava</sup> semana), se determinó el área, considerando el ancho y largo foliar, y la biomasa seca, colocando el vástago en la estufa a 80°C por 72 h. También se cuantificó el fósforo (P) foliar mediante ICP-OES, y la frecuencia de micorrización (%F) y riqueza arbuscular (%A) por microscopía óptica de muestras de raíces decoloradas y teñidas. Las esporas presentes en suelo con inóculo nativo fueron aisladas e identificadas taxonómicamente observándolas al microscopio. La altura, número de hojas y grosor del tallo de *P. edulis* fueron variables durante todo el periodo de experimentación, mostrando mayores valores a la 13<sup>ava</sup> semana. Estadísticamente, estos parámetros se diferenciaron significativamente entre los tratamientos durante el periodo de observación semanal y al final del ensayo, con máximos generalmente en los tratamientos micorrizados (tanto con el inóculo nativo como el comercial, fosforados o no) en comparación con las plantas cultivadas con P o control. El área, biomasa seca y P foliar tuvieron un comportamiento parecido a las variables anteriores. El %F fue significativamente más alto en todos los tratamientos micorrizados; mientras que el %A lo fue en los micorrizados combinados con P. Estos resultados permiten sostener que la parchita es una planta muy dependiente de los HMA (nativos o comerciales), ya que requiere de esta asociación simbiótica para alcanzar mayor crecimiento y desarrollo, bajo las condiciones edafoclimáticas del estado Sucre.

## INTRODUCCIÓN

Dentro del género *Passiflora* se conocen cerca de 10 especies que se cultivan comercialmente por sus frutos y otras son de uso medicinal u ornamental (Haddad y Millan, 1975). La parchita *Passiflora edulis* Sims. (Passifloraceae), es una planta tropical originaria de la región amazónica del Brasil. Se caracteriza por ser leñosa, perenne, de hábito trepador y de rápido desarrollo, que puede alcanzar hasta 10 m de largo; las hojas son simples, alternas, con estípulas y un zarcillo en la axila, con márgenes aserrados, las flores son solitarias y axilares, fragantes y vistosas; el fruto es una baya esférica, globosa o elipsoide, que mide hasta 10 cm de diámetro y pesa hasta 190 g, de color amarillo o purpúreo, con una pulpa muy aromática (Galindo, 2000).

En Venezuela la parchita es una fruta muy apreciada, dado su sabor exquisito y distintas propiedades etnofarmacológicas, por lo cual es de gran aceptación en el mercado nacional. Es cultivado en amplias zonas del país sobre todo en los estados Zulia, Mérida, Barinas, Cojedes, Aragua, Carabobo, Apure, Táchira, Monagas y Yaracuy (Abou *et al.*, 2007). Entre sus usos comerciales, destacan: la elaboración de cremas pasteleras, dulces, licores, confites, néctares, jaleas, refrescos y concentrados. La cáscara es utilizada para preparar raciones alimenticias de ganado bovino, pues es rica en aminoácidos, proteínas, carbohidratos y pectina. Este último elemento hace que se emplee en la industria de la confitería para darle consistencia a jaleas y gelatinas. La semilla de la parchita se puede usar en la fabricación de aceites, tintas y barnices. El aceite puede ser refinado para fines alimenticios. Otro subproducto que se extrae es la maracuyina o pasiflora, un tranquilizante natural muy apreciado (Martin y Nakasone, 1970). La información etnofarmacológica revela que ha sido utilizada en medicina tradicional en diversas partes del mundo. En Sur América se indica como relajante muscular (Brack, 1999), se bebe la infusión de hojas y flores como sedante y para el tratamiento de tétanos, epilepsia, insomnio e hipertensión (Desmarchelier, 2000); además, se usa como diurético y para tratar dolores estomacales, tumores intestinales y fiebre (Natural Products Alert, 2001).

Al igual que el 90-95% de las plantas cultivadas de importancia agrícola, medicinal u

ornamental, la parchita, establece relaciones simbióticas con una gran diversidad de microorganismos que conforman la biota del suelo, entre los grupos más importantes de éstos se encuentran los hongos, constituidos por diversos grupos que difieren en estructura y función. Algunos de éstos se asocian con las raíces de las plantas formando micorrizas, éstas se definen como una asociación simbiótica mutualista entre ciertos hongos y raíces (Simon *et al.*, 1993). A pesar de que las micorrizas fueron descubiertas en el siglo XIX por el botánico alemán Frank (Sieverding, 1991) los registros fósiles más antiguos indican que la asociación mutualista hongo-planta, tiene unos 400 millones de años (Bago *et al.*, 1998). Se considera que existe una compleja coevolución entre las plantas y sus hongos asociados, que se manifiesta en la amplia distribución del fenómeno y en la diversidad de mecanismos morfológicos, fisiológicos y ecológicos implicados (Simon *et al.*, 1993).

Siguiendo criterios morfológicos y estructurales, las micorrizas se clasifican en tres grupos: ectomicorrizas, endomicorrizas y un último grupo que presenta características de ambas y son llamadas ectendomicorrizas (Harrison, 1997). Esta clasificación se refiere al lugar donde se encuentra el micelio del hongo en relación a las células corticales de la raíz. En las ectomicorrizas, el micelio forma un manto de hifas que rodea la raíz. El desarrollo del hongo en el interior de la corteza es intercelular, formando una especie de red, llamada red de Hartig. En cambio, en las endomicorrizas el hongo no forma manto sobre la raíz, sino que las hifas del hongo penetran en el interior de las células de la corteza y pueden formar estructuras especializadas denominadas arbusculos y/o vesículas (Peterson *et al.*, 2004).

Los arbusculos son estructuras formadas mediante repetidas ramificaciones dicotómicas y representan el sitio de intercambio de fosfato y otros nutrientes entre el hongo y la planta. Algunas especies de este grupo forman vesículas, estructuras que contienen lípidos y almacenan compuestos carbonados de reserva para el hongo (Bentivenga y Morton, 1995). Los hongos que se especializan formando arbusculos se denominan micorrízicos arbusculares (HMA) y pertenecen al filo Glomeromycota, siendo éstos simbiontes obligados de las raíces de las plantas (Smith y Read, 1997). Este filo se

divide en cuatro órdenes: Glomerales, Diversisporales, Paraglomerales, y Archaeosporales, once familias y dieciocho géneros (Schüssler y Walker, 2010), en los cuales hasta el momento se han identificado aproximadamente 214 especies.

Un 80% de las plantas terrestres se encuentran en simbiosis con los HMA (Smith y Read, 1997), éstos están presentes en muchos suelos y en general no se consideran huéspedes específicos (Tena, 2002), Sin embargo, la abundancia y composición de especies de HMA es variable dependiendo de la planta hospedera y los factores ambientales tales como: temperatura, aireación, contenido de arcilla, materia orgánica, pH y humedad del suelo, niveles de fósforo y nitrógeno, concentración de metales, la presencia de otros grupos de microorganismos, la aplicación de fertilizantes y plaguicidas, y la salinidad de los suelos (Carrenho *et al.*, 2001). Las especies y la población de los HMA difieren en los rangos de tolerancia a las propiedades fisicoquímicas de los suelos que invaden, por lo tanto, difieren en su efectividad para aumentar el crecimiento de las plantas en suelos particulares (Daniels y Trappe, 1980; Porter *et al.*, 1987).

Los beneficios más conocidos de los HMA a sus plantas hospederas son: su capacidad de incrementar la fertilidad mediante cambios en la forma de crecimiento y la arquitectura del sistema radical (Lynch, 1990; Bolan, 1991; Lárez, 1991; Gross *et al.*, 2003; Carpintero, 2006) y la tolerancia de plantas sometidas a diferentes situaciones de estrés, como el déficit de agua (Beltrano y Ronco, 2008), mediante mecanismos que incluyen una ampliación en el área de superficie de raíces micorrícicas, regulación estomática y una menor resistencia en el transporte del agua y los solutos (Auge, 2001); contaminación por metales pesados (Rabie, 2005; Biró y Trakács, 2006; Liasu y Ogundola, 2006) e hidrocarburos (Robertson *et al.*, 2007). También se destacan por proporcionar mayor resistencia a la salinidad (Rabie y Almadini, 2005; Murkute *et al.*, 2006; Sannazzaro *et al.*, 2006), protección contra hongos patógenos (Barea *et al.*, 1998) y nemátodos al funcionar como una barrera protectora en el sistema radical (García-Garrido y Ocampo, 1989; Azcón-Aguilar y Barea, 1996).

La influencia de estos hongos en las plantas se observa principalmente en el crecimiento y desarrollo de las mismas, gracias a que intervienen en la regulación de los procesos de absorción y/o asimilación de nutrientes, en especial de aquellos poco móviles, como el zinc, cobre y fósforo (Stürmer y Bellei, 1994).

El fósforo en las plantas interviene en la mayor parte de las reacciones bioquímicas como son: respiración, síntesis y descomposición de carbohidratos, síntesis de proteínas y actividad de las diastasas, entre otros (Azcón-Bieto y Talón, 2000). A través de varias reacciones químicas, el P se incorpora a compuestos orgánicos como ácidos nucleicos (ADN y ARN), fosfoproteínas, fosfolípidos, enzimas y compuestos fosfatados ricos en energía como la adenosina trifosfato (ATP), esencial para el desarrollo de nuevas células y para la transferencia del código genético de una célula a otra, a medida que se desarrollan nuevas células. También es un factor de crecimiento y precocidad ya que activa el desarrollo inicial y acorta el ciclo vegetativo. Además, el P se acumula en semillas formando parte de la fitina, que es la principal forma de almacenamiento de P en semillas y frutos, donde es esencial para su formación y maduración (Gros *et al.*, 1986).

Sin embargo, el 80-99% del fósforo presente en el suelo no está disponible para la planta debido a diferentes factores como la adsorción, precipitación o conversión en formas orgánicas (Fernández *et al.*, 2005). Por esta razón, la simbiosis micorrízica es importante, pues las hifas fúngicas se extienden en el suelo y permiten a las raíces explorar un volumen más grande del mismo (Smith y Read, 1997). Los HMA, además de aumentar el área de la superficie de absorción, aceleran el movimiento del P hacia la raíz debido a que las hifas aumentan la afinidad de la raíz por este nutriente, lo solubilizan desde el suelo al liberar ácidos orgánicos y enzimas fosfatasas e incrementan su almacenamiento mediante la absorción de este mineral por el sistema radical (Harrison, 1997). Por consiguiente, las plantas micorrizadas son a menudo más competitivas y toleran el estrés ambiental mejor que las plantas no micorrizadas (Liasu y Ogundola, 2006).

Por otra parte, los HMA contribuyen al almacenamiento de carbono por la alteración de la cantidad y calidad de la materia orgánica del suelo; transfieren a sus hospederas cantidades significativas de carbono a través del micelio fúngico micorrízico (Pfeffer *et al.*, 1999; Bago *et al.*, 2003); reducen la competencia entre las plantas (Marler *et al.*, 1999); contribuyen a la estabilidad y diversidad del ecosistema (Strack *et al.*, 2003) y a la reforestación de suelos degradados (Stahl *et al.*, 1988; Dannowski y Werner, 1997; Rabie, 2005). Los HMA pueden ser determinantes en la estructuración de una comunidad vegetal al afectar directa o indirectamente la capacidad de crecimiento y vigorosidad de las plantas (Allen *et al.*, 1996; Cabello, 1999; Hernández, 2000; Smith *et al.*, 2000). En los últimos años, los inconvenientes causados por el uso de químicos en la agricultura se han incrementado, lo que ha generado un gran interés en la búsqueda de sistemas que puedan proteger la calidad del ambiente mediante procesos biológicos naturales y el establecimiento de interacciones beneficiosas con microorganismos del suelo, siendo la inoculación con HMA una de estas estrategias empleadas (Howell, 2003).

Actualmente, los investigadores se han enfocado masivamente en el estudio de las micorrizas arbusculares como biofertilizantes de tierras agrícolas. El potencial de manejo de la micorriza arbuscular en la agricultura ha sido demostrado por numerosos trabajos realizados bajo condiciones de campo y de invernadero, en los cuales se han evidenciado los efectos benéficos de la inoculación con HMA sobre la nutrición, crecimiento y producción de plantas de importancia agrícola como el cacao (Cuenca, *et al.*, 1990), banano (Declerck, *et al.*, 1994; 1995), café (Estrada y Sánchez, 1995), pimentón (Kim, *et al.*, 2002; Estrada-Luna y Davies, 2003), maíz, cilantro, remolacha, haba, tomate (Sánchez, 2002), yuca y lechuga (Cuenca *et al.*, 2007). No obstante una serie de estudios han demostrado que la respuesta de la simbiosis puede variar en un amplio intervalo que comprende desde una respuesta positiva hasta una respuesta negativa, dependiendo tanto de la especie de planta hospedera como de la especie o cepa de HMA asociado y de las condiciones ambientales (Johnson, *et al.*, 1997; Douds, *et al.*, 1998; Taylor y Harrier, 2000).

La efectividad de los HMA nativos puede ser mayor en comparación con los HMA introducidos debido, probablemente, a una mejor adaptación al medio. Sin embargo, algunos estudios han mostrado resultados contradictorios. Mientras algunos resultados señalan que en comparación al inóculo introducido, los nativos pueden provocar una mejor respuesta de crecimiento de las plantas (González-Chávez y Ferrera-Cerrato, 1993), otros estudios han hallado que en algunas especies de plantas los hongos introducidos fueron más eficientes que el inóculo nativo (Caravaca, *et al.*, 2005). Esto sugiere que la efectividad de los HMA también puede depender del hospedero. De cualquier manera, el encontrar especies eficientes de HMA, sean éstas nativas o introducidas, permitirían optimizar la productividad de las plantas, minimizando el impacto del uso de agroquímicos sobre el ambiente.

A pesar de la gran demanda de parchita como producto fresco, al ser consumido directamente en jugos o ser industrializado, no se han reportado estudios de la interacción con las micorrizas arbusculares para aumentar la productividad de dicho cultivo, bajo las condiciones edafoclimáticas del estado Sucre. En virtud de la importancia de este cultivo, se plantea el estudio de la inoculación de micorrizas arbusculares sobre el crecimiento y desarrollo de *P. edulis* bajo condiciones de vivero.

## METODOLOGÍA

### Ubicación del ensayo

El bioensayo se realizó en un vivero particular en la ciudad de Cumaná, Estado Sucre, en las coordenadas 10° 26'02" N y 64°09'28"O.

### Material vegetal

Las semillas de parchita (*Passiflora edulis* Sims.) fueron extraídas de frutos maduros cosechados directamente de plantas vigorosas y de buena producción, seleccionando aquellos de forma ovalada, pulpa amarilla intensa, fuerte aroma, sin daños mecánicos y libres de enfermedades.

### Manipulación y análisis del suelo

Se utilizó suelo de vivero, el cual fue esterilizado en autoclave a una presión de 15 psi por 15 min. Asimismo, se envió una muestra representativa del suelo original (aproximadamente 500 g) al Laboratorio de Suelos del Instituto Universitario de Tecnología (IUT-Cariaco, Edo. Sucre) para determinar la textura, pH, conductividad eléctrica, materia orgánica y contenido de P, N y K.

### Inóculo HMA

Se utilizaron dos fuentes de inóculo, uno introducido y uno nativo, el introducido estuvo representado por la mezcla de 52% *Funneliformis mosseae* + 48% *Diversispora spurca*, provenientes de la colección de inóculos de Glomeromycota del Laboratorio de Ecología de Suelos del IVIC, el cual está garantizado con un 85-90% de pureza.

El inóculo nativo se obtuvo a partir de 15 kg suelo provenientes del jardín botánico Chara Chakra, ubicado en el sector Tres Picos, Cumaná, estado Sucre; dicho suelo fue tamizado (tamiz de 250 µm) y el material recogido fue considerado como el inóculo nativo, el cual estaba formado, al igual que el inóculo comercial, por fragmentos de raíces mezcladas con las partículas de suelo. La presencia de esporas de HMA fue verificada mediante la técnica del tamizado húmedo y decantado (Sieverding, 1991).

### **Aplicación de tratamientos y siembra**

Se utilizaron 36 envases plásticos (6 por cada tratamiento) de 1 kg de capacidad, que contenían 600 g de suelo previamente esterilizado. Para los tratamientos con fósforo, se aplicó Fosfopoder 25% a cada envase, mezclándolo homogéneamente con el suelo, teniendo una concentración final de 25 mg kg<sup>-1</sup> de P. La aplicación de los inóculos HMA se realizó de manera directa, aplicando 30 g del mismo en la capa superficial, según el tratamiento correspondiente, para asegurar el contacto con las semillas. Diez semillas de parchita fueron sembradas directamente en cada envase y se mantuvieron en el vivero particular antes mencionado, a temperatura ambiente, con suministro diario de agua de chorro, hasta el final del experimento. Después de la germinación de las plántulas, se realizó un raleo, escogiendo las plantas más uniformes en vigor y tamaño entre tratamientos, quedando una planta por envase.

### **Diseño experimental**

Se utilizó bloque completo al azar con arreglo factorial (BADAF) de 3 x 2 con 6 repeticiones, para un total de 36 unidades experimentales, cada unidad experimental estaba constituida por una planta. Se evaluó el efecto del inóculo nativo y del inóculo comercial (52 % *Funneliformis mosseae* y 48 % *Diversispora spurca*), además, de la aplicación de 25 mg kg<sup>-1</sup> de fósforo inorgánico y su combinación con el inóculo nativo y con el inóculo comercial. Algunas plantas se mantuvieron solo con suelo de vivero esterilizado (control). Estos tratamientos y su nomenclatura se señalan en la Tabla 1.

Tabla 1: Tratamientos utilizados en el ensayo.

Tratamiento	Nomenclatura
Inoculo nativo	IN
<i>F. mosseae</i> + <i>D. spurca</i>	(F+D)
25 mg kg <sup>-1</sup> de fósforo (P)	P
25 mg kg <sup>-1</sup> P + inoculo nativo	P+IN
25 mg kg <sup>-1</sup> P+ <i>F. mosseae</i> + <i>D. spurca spurca</i>	P+(F+D)
Control	control

### **Evaluación del crecimiento y desarrollo de la parte aérea de las plantas**

A partir de la séptima semana después de la germinación, se midió semanalmente hasta el momento de la cosecha el crecimiento y desarrollo de cada una de las plantas. Las variables que se evaluaron fueron: altura, número de hojas y grosor de la base del tallo. Adicionalmente, al final del experimento (13<sup>ava</sup> semana), se determinó el área foliar y la biomasa seca.

#### **Altura**

Medida desde la base del tallo hasta el meristema apical, localizado en la yema terminal, para esto se empleó una cinta métrica.

#### **Número de hojas**

Se registró el número de hojas totales observadas en cada una de las plantas.

#### **Grosor de la base del tallo**

Medida en la base del tallo con ayuda de un vernier digital Mitutoyo, modelo CD-6.

#### **Área foliar**

Se seleccionaron hojas ampliamente extendidas, que por lo general se encontraban en la zona media de la planta, y se estimó el área foliar a partir de cálculos matemáticos, que involucran mediciones del largo por el ancho de las hojas según la fórmula de Casierra-Posada *et al.* (2007):

$$Y = 0,728545X - 0,001184X^2 + 8,60036002X^3$$

*Y: Área foliar (cm<sup>2</sup>)*

*X: Longitud (cm<sup>2</sup>) x Ancho (cm<sup>2</sup>)*

#### **Biomasa seca aérea**

La biomasa seca constante se determinó mediante el método de Campos (1994), que consiste en separar la parte aérea de las plantas y colocarlas en bolsas de papel previamente rotuladas de acuerdo a los tratamientos. Luego se sometió a secado en la

estufa (Lab-Line<sup>®</sup>) a 80°C por 72 horas. Al término de este período, se procedió a pesar cada una de las muestras con una balanza analítica marca Denver Instrument Company, modelo TR-64.

### **Contenido de fósforo foliar**

Al final del experimento se determinó el contenido de fósforo foliar. El análisis del tejido vegetal se realizó en el Laboratorio de Fisiología Vegetal de la Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre, Departamento de Biología. Se pesó 1g de tejido vegetal seco molido, correspondiente a la parte aérea de cada una de las plantas de parchita, en una cápsula de porcelana, y con una varilla de vidrio se impregno la muestra con nitrato de magnesio al 50% para evitar la pérdida del elemento por volatilización; luego se calcinó (500 °C por 1h) y las cenizas obtenidas fueron digeridas con ácido nítrico concentrado, diluidas con agua desionizada y filtradas (Chapman y Pratt, 1973). A partir de esta dilución se determinó el contenido de fósforo por espectrometría de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente (ICP-OES).

### **Porcentaje de infección micorrízica**

El porcentaje de colonización de los HMA en los sistemas radicales, se realizó al final del experimento mediante el procedimiento de decoloración y tinción (Phillips y Hayman, 1970), con modificaciones de Dodd *et al.* (2001), que consiste en tomar las muestras de raíces de aproximadamente 2 g, colocarlas en cápsulas plásticas "tissue teck" y sumergirlas en KOH 1%, en baño de María a 90°C durante 5 minutos, para despigmentar los tejidos corticales. Luego, se decantó el KOH y, posteriormente, fueron lavadas en agua destilada e introducidas en HCl 1% por 10 minutos para neutralizar el KOH; se decantó el HCl y se colocaron las muestras en tubos de tinción, para cubrir las con azul de tripano al 0,05% en lactoglicerina por 24 horas. Posteriormente, fueron lavadas con agua de chorro hasta eliminar el exceso de colorante y se colocaron en lactoglicerina, donde permanecieron hasta el momento de su evaluación.

Se evaluó de cada tratamiento por triplicado, una muestra de 10 segmentos de raíces de aproximadamente 2 cm de longitud, los cuales se colocaron paralelamente en un

portaobjeto de manera perpendicular al eje más largo, se les añadió lactoglicerina a las raíces y se les colocó otro portaobjetos encima a fin de protegerles completamente (Figura 1).

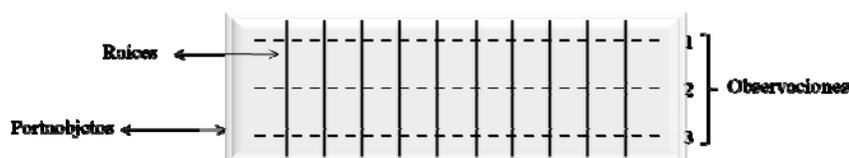


Figura 1. Esquema del montaje de raíces teñidas en azul de tripano en láminas portaobjetos.

La presencia o ausencia del micelio fúngico y arbuscúlos, se determinó con un microscopio marca Motic serie B-1, con los objetivos de 10 y 40X (100 y 400X de magnificación). Cada segmento fue categorizado (dependiendo de la presencia o ausencia del micelio intraradical) entre las clases 0 (0% infección) hasta 5 (>95% infección). Simultáneamente, la proporción de arbuscúlos en cada porción infectada fue categorizada entre  $A_0$  (0% arbuscúlos) hasta  $A_3$  (100% arbuscúlos). La frecuencia de micorrización y riqueza de arbuscúlos en la corteza radical que representa las variables del porcentaje de infección de los HMA, se observaron según el método de Trouvelot *et al.* (1986), contando interceptos con y sin evidencias de infección y aplicando las siguientes fórmulas:

$$\text{Frecuencia de micorrización (\%F)} = (n1 + 5 n2 + 30 n3 + 70 n4 + 95 n5) / N$$

$$\text{Riqueza arbuscular total (\%A)} = a M / 100$$

$$M (\%) = (n1A + 5 n2A + 30 n3A + 70 n4A + 95 n5A) / 100$$

$$a (\%) = (10 M1 + 50 M2 + 100 M3) / 100$$

*Donde la frecuencia de micorrización (%F) es simétrica en el rango 5-95 %, N es el número de fragmentos observados, a es el porcentaje de arbuscúlos en la porción de raíz colonizada, M es la intensidad de micorrización total (%), A es el número de fragmentos con arbuscúlos categorizados, n1.... n5 y n1A....n5A representan el número de fragmentos pertenecientes a las categorías como 1....5, respectivamente.*

### **Aislamiento e identificación de los HMA presentes en el inoculo nativo**

Para la extracción de esporas de los HMA nativos, se siguió el método del tamizado húmedo de Gerdemann y Nicolson (1963). En una balanza analítica se pesaron 50 g de suelo de cada muestra obtenida una vez culminada la fase de vivero y se colocó en un beaker de vidrio de 500 ml de capacidad, se mezcló con 300 ml de agua de chorro, agitándose por 20 s. Posteriormente la mezcla fue vertida a través de tamices de 250  $\mu\text{m}$  hasta 35  $\mu\text{m}$ .

Las muestras que quedaron en el tamiz de 35  $\mu\text{m}$ , se colocaron en tubos de centrífuga a los cuales se les añadió 10 ml de agua estos fueron colocados en una centrifuga (Hamilton Bell V 6500) a 3 000 rpm durante 3,5 min, se descarto el sobrenadante y se centrifugo nuevamente con sacarosa al 60%, luego el sobrenadante fue vertido sobre el tamiz de 35  $\mu\text{m}$ , donde se lavaron las esporas con abundante agua de chorro. El residuo resultante se colocó en una cápsula de Petri para su posterior identificación taxonómica. Las esporas fueron transferidas a un portaobjetos con una gota de agua destilada. Después de secarse la muestra, se colocó una gota de polivinil lactoglicerina (PVLG) para preservar las esporas, luego se procedió a colocar un cubreobjeto. Una vez preparadas las láminas se secaron en la estufa. Estas láminas fueron observadas bajo microscopio de luz con los objetivos de 10X y 40X, la identificación taxonómica de las esporas se realizó según INVAM (1999) y Schüssler y Walker (2010).

### **Análisis estadísticos**

Se efectuaron pruebas de normalidad D'Agostino-Pearson (Zar, 1999). Posteriormente fueron analizados estadísticamente con un análisis de varianza (ANOVA), utilizando el programa Statistic, versión 8 y finalmente para los tratamientos significativos se realizó la prueba *a posteriori* de LSD All-Pairwise, con un nivel de significancia de 0,05. Debido a que no se encontró ninguna transformación que permitiera normalizar los datos de la altura (cm) por semana, se procedió a realizar el análisis de varianza no paramétrico de dos vías de Friedman y se aplicó la prueba de comparaciones múltiples de Tukey, con un nivel de significancia de 0,05.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Análisis físico-químico del suelo

La Tabla 2 muestra el análisis fisicoquímico del suelo original utilizado en el ensayo. Se puede observar, en líneas generales, una textura arcillo arenosa, pH ligeramente alcalino y niveles de conductividad eléctrica, materia orgánica, nitrógeno, potasio y fósforo entre medio y bajo.

Tabla 2. Análisis fisicoquímico del suelo original.

Determinaciones	Resultado
Textura	Aa
pH	7,8 A
CE (Mmhos/cm)	1,6 M
Materia orgánica (%)	0,5 B
Nitrógeno total (%)	0,0025 B
Potasio (mg kg <sup>-1</sup> )	95 M
Fósforo (mg kg <sup>-1</sup> )	12 M

Aa: arcillo-arenoso, CE: conductividad eléctrica, A: alto, M: medio y B: bajo.

En el análisis físico del suelo se evaluó una de las propiedades morfológicas más importantes y de mayor utilidad en la caracterización de los suelos como lo es la textura, la cual, para esta investigación, resultó ser arcillo arenosa (Aa), lo que se traduce en un porcentaje suficiente de arena que modifica las propiedades impartidas por la arcilla permitiendo una adecuada producción vegetal (Peralta, 1995) y evitando la compactación del suelo (que supone un impedimento físico) que dificulta el crecimiento de las hifas (Wallace, 1987). Al respecto, se ha señalado que algunas especies como *Gigaspora* sp., pueden ser favorecidas por los suelos arenosos (Day *et al.*, 1987); sin embargo, Duke *et al.*, (1986), demostraron que la infección es baja en esta condición.

El pH del suelo observado fue ligeramente alcalino. A menudo un pH superior a 6,5 solidifica muchos de los elementos necesarios para las plantas, entre ellos el fósforo, por lo cual estas no pueden asimilarlo con facilidad. De allí el papel de los HMA, ya que aumentan la superficie de absorción de nutrientes, solubilizan el P y aceleran el

movimiento del P hacia la raíz (Harrison, 1997).

Se ha señalado que, al igual que toda la micoflora edáfica, los HMA son dependientes del pH. Al respecto, Barea y Jeffries (1995) argumentan que las HMA tienen amplia adaptación a condiciones de pH (éstas se han encontrado en suelos con pH desde 2,7-9,2). Además, se han reportado diferentes especies y ecotipos en cuanto a su capacidad para colonizar un hospedero en función al pH (Peña *et al.*, 2006). En la Tabla 2 se evidencia que el pH encontrado en el suelo usado para la presente investigación, está dentro del rango natural para que se desarrolle la simbiosis, se establezca en el suelo y ocurra la esporulación, como lo señalan los mencionados autores.

La salinidad se deduce a partir de la conductividad eléctrica, los resultados obtenidos muestran CE media, lo cual puede representar un factor limitante en la producción agrícola debido a que las sales en exceso son tóxicas para las plantas, impiden la absorción de agua incrementando los daños por sequía, alteran el metabolismo y causa desbalance nutricional. Un exceso de cloro puede interferir en la absorción de nitratos y fosfatos, e igualmente una alta concentración de sodio puede afectar la adquisición de calcio y magnesio (Mosse, 1991). Se ha demostrado que la mejora de la nutrición en plantas micorrizadas es un factor clave que justifica el incremento de tolerancia a condiciones de salinidad (Kennedy y Smith, 1995).

La materia orgánica (0,5%) encontrada en los suelos utilizados en los estudios resultó ser baja (Tabla 2) lo cual puede favorecer el establecimiento de la simbiosis. Aun cuando han habido especulaciones que afirman que la materia orgánica adicionada al suelo, estimula el desarrollo micorrízico (Hayman, 1987), otros investigadores señalan que estos pueden crecer saprofiticamente en suelos con abundante materia orgánica (Warner, 1984), existen estudios que plantean que altos contenidos de materia orgánica no siempre estimulan el desarrollo de las micorrizas (Herrera *et al.*, 1995).

Gerdemann (1968) señala que un alto balance de nutrientes minerales reduce el grado de infección de los HMA; mientras que un suministro de nutrientes bajos o desequilibrado

lo aumenta. Concluyó que esa muy baja cantidad, o una deficiencia moderada de nitrógeno o fósforo aumentó la cantidad de carbohidratos en las raíces, haciéndolas más susceptibles a la infección micorrízica. En la presente investigación, los niveles de N, P y K resultaron medios o bajos, lo que podría favorecer la infección con los HMA aplicados. Por su parte, Sieverding (1991) señaló que el beneficio aportado por la acción micorrízica en la absorción de nutrientes para el crecimiento de las plantas resulta altamente efectivo, particularmente en suelos tropicales deficientes en P asimilable.

### **Evaluación del crecimiento y desarrollo de la parte aérea de las plantas**

La Figura 2 muestra que para la fecha de cosecha (semana 13) las plantas de *Passiflora edulis* inoculadas con HMA tanto nativos como comerciales, combinadas o no con fósforo [P+IN, P+(F+D) y IN, (F+D)], maximizaron el crecimiento y desarrollo, observándose mayor altura y número de hojas en comparación con las no micorrizadas.

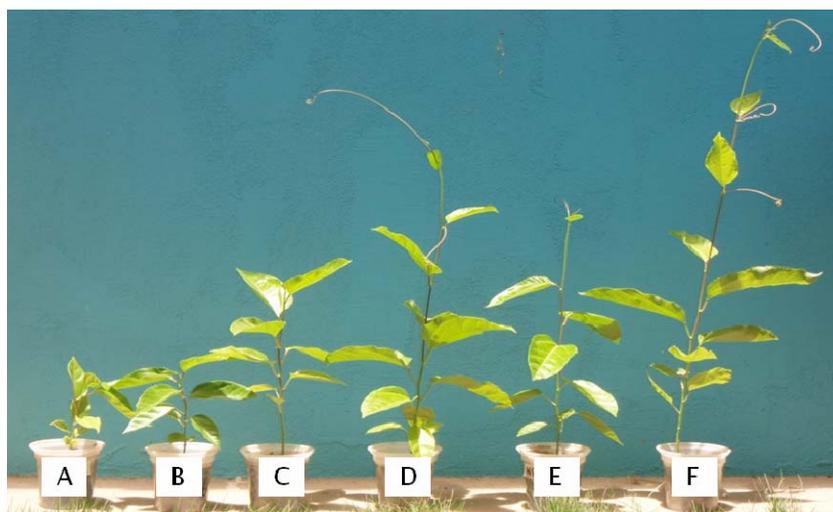


Figura 2. Crecimiento y desarrollo a cosecha (semana 13) de *Passiflora edulis* sometida a diferentes tratamientos. A: control; B: 25 mg kg<sup>-1</sup> de fósforo (P); C: *Funneliformis mosseae* + *Diversispora spurca* (F+D); D: 25 mg kg<sup>-1</sup> P + *Funneliformis mosseae* + *Diversispora spurca* [P+(F+D)]; E: inoculo nativo (IN); F: 25 mg kg<sup>-1</sup> P + inoculo nativo (P+IN).

También se observó la aparición de los primeros zarcillos (estructura que le permite fijarse al soporte) en plantas micorrizadas (Figura 3), lo cual indica que ha culminado la fase de vivero de las plantas juveniles y que están listas para su trasplante definitivo

como lo señalan Pérez y Rosales (2005). Estos resultados permiten inferir que las micorrizas son sumamente importantes para disminuir el tiempo en la fase de vivero, por lo que el trasplante definitivo puede darse antes de los 60 días después de la siembra.



Figura 3. Zarcillo desarrollado en planta de *Passiflora edulis* inoculadas con HMA.

### **Altura**

La Figura 4A muestra que la altura se incrementa durante todo el periodo de experimentación para todos los tratamientos, alcanzando valores mayores al final del ensayo. Las plantas tratadas con inóculo nativo o introducido, combinados o no con fósforo alcanzaron la mayor altura, en comparación con el control y con aquellas donde sólo se aplicó fósforo. En la Figura 4B y Tabla 1 del apéndice se pueden apreciar diferencias estadísticamente significativas ( $F_s=19,21$ ;  $p<0,001$ ) entre los tratamientos durante el periodo de observación semanal, formándose los siguientes grupos: el grupo a, de mayor altura, representado por los tratamientos inoculados con HMA nativos con o sin la aplicación de P; seguido del grupo intermedio representado por las plantas sometidas al inóculo introducido con o sin P (grupo ab y abc) y finalmente aquellas sometidas a los tratamientos no micorrizados (grupo bc y c) que alcanzaron la menor altura (P y control). Al final del experimento (Figura 4C) se puede observar un comportamiento parecido, con mayores valores en las plantas micorrizadas en comparación con las no micorrizadas ( $F_s=4,71$ ;  $p=0,004$ ) (Tabla 2 del apéndice).

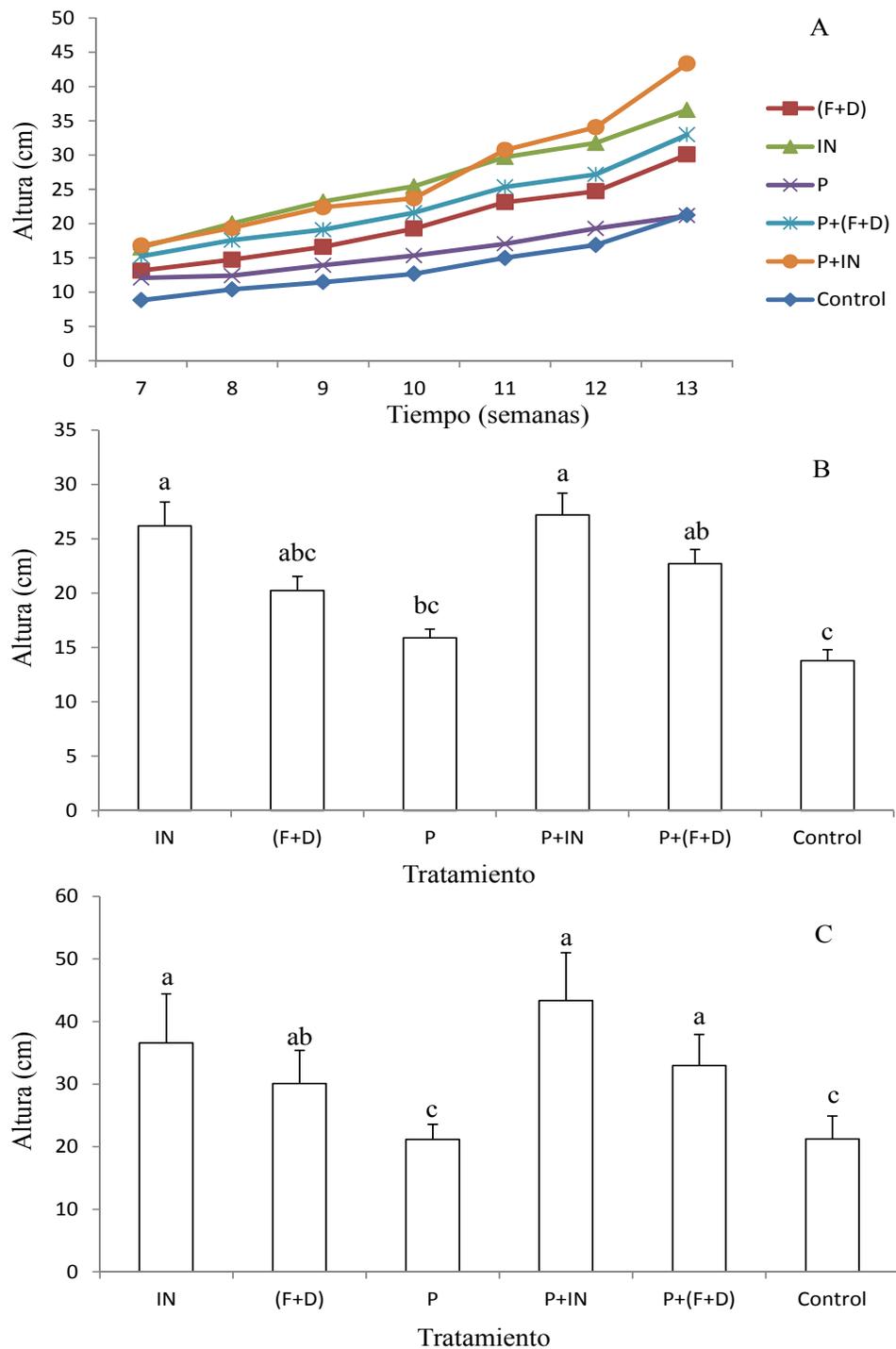


Figura 4. Variación temporal de la altura (A), altura durante el periodo de observación semanal (B) y altura a cosecha (C) de *Passiflora edulis* sometida a diferentes tratamientos. IN: inóculo nativo; (F+D): *Funneliformis mosseae* + *Diversispora spurca*; P: 25 mg kg<sup>-1</sup> de fósforo (P); P+IN: 25 mg kg<sup>-1</sup> P + inóculo nativo; P+(F+D): 25 mg kg<sup>-1</sup> P + *Funneliformis mosseae* + *Diversispora spurca*; control. Los valores son los promedios ± ES (n=6 para A y C; n=42 para B). Las letras sobre las barras indican diferencias entre tratamientos

Los resultados obtenidos para las plantas de parchita se corresponden con los mostrados para la guayaba (*Psidium guajava*), donde en los tratamientos micorrizicos (nativos y comerciales) se alcanzaron los mayores valores con respecto al control no micorrizado; igualmente, la fertilización con superfosfato triple (SPT) unida a la inoculación con uno de los HMA comerciales (*Scutellospora fulgida*), produjo mejores resultados que los inoculados con *S. fulgida* sin SPT (Chacón y Cuenca, 1998).

El hecho de que las plantas inoculadas con HMA presentaran una mayor altura, puede deberse a una mejora nutritiva de la planta, propia de la acción micorrizica en el aumento de la eficacia en la absorción y/o asimilación de nutrientes por la raíz, en especial de aquellos poco móviles, como fósforo, y a cambios metabólicos profundos y complejos debido a la integración fisiológica de los simbiontes que conllevan a una mayor altura de las plantas (Stürmer y Bellei, 1994); todo ello aunado al grado de compatibilidad de la planta con el inóculo micorrizico bajo las condiciones establecidas por cada tratamiento, lo cual influye directamente en la expresión de los beneficios de la simbiosis en la nutrición del huésped, repercutiendo en una mayor inversión energética de la planta para su crecimiento y desarrollo de la parte aérea de manera general (Powell y Bagyaraj, 1984). El comportamiento observado en la altura de las plantas estuvo marcado por la acción de las micorrizas, más que a la combinación de éstas con P o por la aplicación del fósforo sólo. Los bajos valores que alcanzaron las plantas control y las tratadas sólo con fósforo confirman los aportes de los HMA para garantizar un rápido crecimiento.

### **Número de hojas**

La Figura 5A muestra que el número de hojas también se incremento durante todo el periodo de experimentación en todos los tratamientos, alcanzando mayores valores al final del ensayo (13<sup>ava</sup> semana), con menores valores en las plantas control en comparación con los demás tratamientos. En la Figura 5B y Tabla 3 del apéndice se puede apreciar diferencias estadísticamente significativas ( $F_s=40,87$ ;  $p<0,001$ ) entre los tratamientos durante el periodo de observación semanal, formándose los siguientes grupos: el grupo a, de mayor altura, representado por los tratamientos inoculados con

HMA nativos con o sin la aplicación de P y por P+(F+D); seguido del grupo intermedio representado por las plantas de los tratamientos F+D y P (grupo b) y finalmente el control (grupo c) con la menor altura. Al final del experimento (Figura 5C) se puede observar un comportamiento parecido, con mayores valores en las plantas micorrizadas en comparación con las no micorrizadas ( $F_s=5,55$ ;  $p<0,001$ ) (Tabla 4 del apéndice).

Estos resultados son contrarios a los encontrados por Pimienta-Barrios *et al.* (2009) en agave (*Agave tequilana*), donde las micorrizas (*Glomus fasciculatum* y *G. intraradices*) no afectaron el número de hojas en comparación con el control sin inoculación. Igualmente difieren de los de Rivera *et al.* (2011) en aguacate (*Persea americana*), donde no se encontraron diferencias significativas en dicha variable cuando las plantas fueron inoculadas con *G. hoi-like* y con *Funneliformis mosseae*, con respecto al control. El hecho de que la inoculación con *F. mosseae* no aumentara el número de hojas con respecto al control en aguacate, a diferencia de los mostrado en la Figura 5, puede deberse a la especificidad del HMA con la planta hospedera o a que para *P. americana* se utilizó solo *F. mosseae*, mientras que para la parchita se uso *F. mosseae* combinado con *D. spurca* (F+D).

No obstante, los resultados (Figura 5) son similares a los obtenidos por Flores-Bello *et al.* (2008) en leucaena (*Leucaena leucocephala*), donde las micorrizas (*G. intraradices* y *G. etunicatum*) incrementaron su número de hojas en comparación con el control sin inoculación.

Las diferencias encontradas en el número de hojas, puede deberse principalmente, al efecto de los HMA en el mantenimiento del estado hídrico de las plantas (Beltrano y Ronco, 2008) y al aumento de la eficiencia en la captación y traslocación de nutrientes desde el suelo hacia el sistema radical, lo que conduce al aumento de la inversión de la planta en la producción de la parte aérea y, por ende, al mayor número de hojas; alcanzando a su vez, una mayor producción de fotosintatos que son necesarios para el establecimiento de la simbiosis, puesto que los HMA requieren de esqueletos carbonados para su crecimiento y sobrevivencia (Tena, 2002).

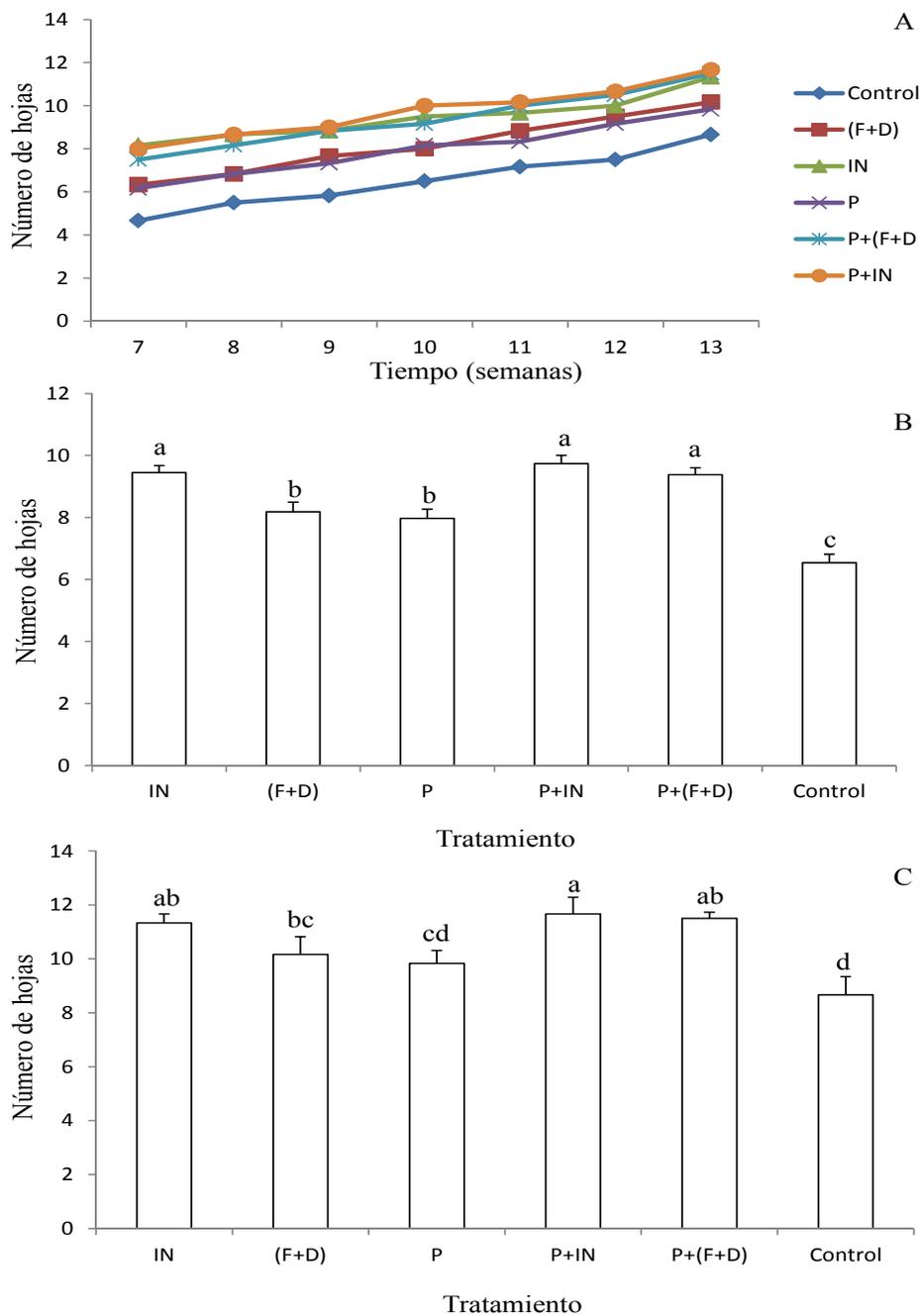


Figura 5. Variación temporal del número de hojas (A), número de hojas durante el periodo de observación semanal (B) y número de hojas a cosecha (C) de *Passiflora edulis* sometida a diferentes tratamientos. IN: inoculo nativo; (F+D): *Funneliformis mosseae* + *Diversispora spurca*; P: 25 mg kg<sup>-1</sup> de fósforo (P); P+IN: 25 mg kg<sup>-1</sup> P + inoculo nativo; P+(F+D): 25 mg kg<sup>-1</sup> P + *Funneliformis mosseae* + *Diversispora spurca*; control. Los valores son los promedios ± ES (n=6 para A y C; n=42 para B). Las letras sobre las barras indican diferencias entre tratamientos.

### 2.3.- Grosor de la base del tallo

El grosor de la base del tallo también fue variable durante todo el periodo de experimentación para todos los tratamientos, alcanzando los valores mayores al final del ensayo (13<sup>ava</sup> semana), con mayores tendencias durante todas las mediciones en los tratamientos P+IN, IN y P+(F+D) con respecto al control (Figura 6A). En la Figura 6B y Tabla 5 del apéndice se pueden apreciar diferencias estadísticamente significativas ( $F_s=44,53$ ;  $p<0,001$ ) entre los tratamientos durante el periodo de observación semanal, formándose los siguientes grupos: el grupo a, con mayor grosor, representado por los tratamientos inoculados con HMA nativos con o sin la aplicación de P y por P+(F+D); seguido del grupo intermedio representado por las plantas de los tratamientos F+D y P (grupo b) y finalmente el control (grupo C) con el menor grosor. Al final del experimento (Figura 6C) se puede observar un comportamiento similar, con mayores valores en las plantas micorrizadas en comparación con las no micorrizadas ( $F_s=6,65$ ;  $p<0,001$ ) (Tabla 6 del apéndice).

Rivera *et al.* (2011), encontraron en que el grosor del tallo fue mayor cuando plantas de aguacate se inocularon con *G. hoi-like* más que con *F. mosseae*, ambos mayores que el control sin micorrización, evidenciando los beneficios de los HMA comerciales sobre dicha variable, sobre todo *G. hoi-like*. En la investigación realizada con la parchita (Figura 6), la inoculación con HMA comercial (*F. mosseae*+*D. spurca*) arrojó buenos resultados con respecto al control.

Las diferencias encontradas (Figura 6) están íntimamente relacionadas, al igual que la altura y número de hojas, con las mejoras aportadas por la simbiosis en la nutrición de la planta. La colonización micorrízica afecta positivamente el grosor caulinar, en un sustrato pobre en nutrientes el micelio externo añade área superficial, ayudando a la función de la raíz sobre todo cuando ésta ha agotado los nutrientes de la zona del suelo adyacente, comparando con plantas no micorrizadas, las plantas micorrizadas tienen más acceso a nutrientes limitantes del crecimiento, por ejemplo fósforo y nitrógeno. Como una típica respuesta al mayor suministro de nutrientes, el crecimiento caulinar es más realizado (Patton y Jones, 1989; Garnier *et al.* 1999; Slaton y Smith, 2002).

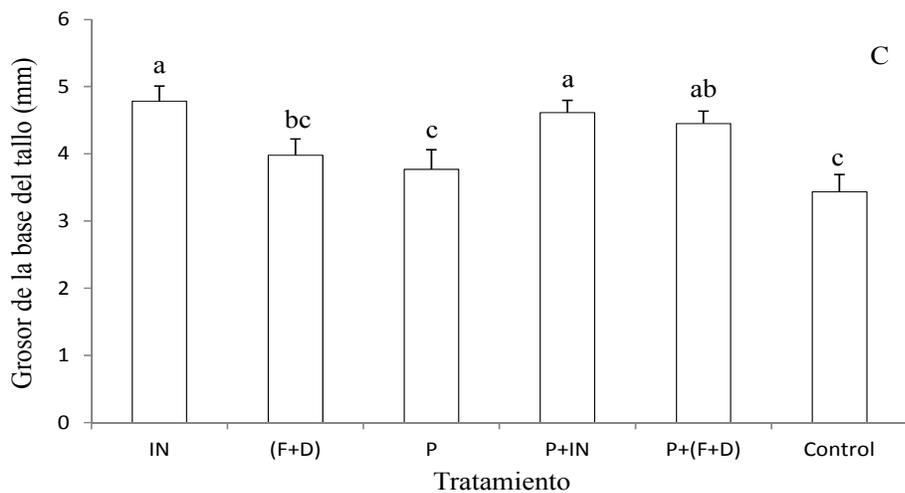
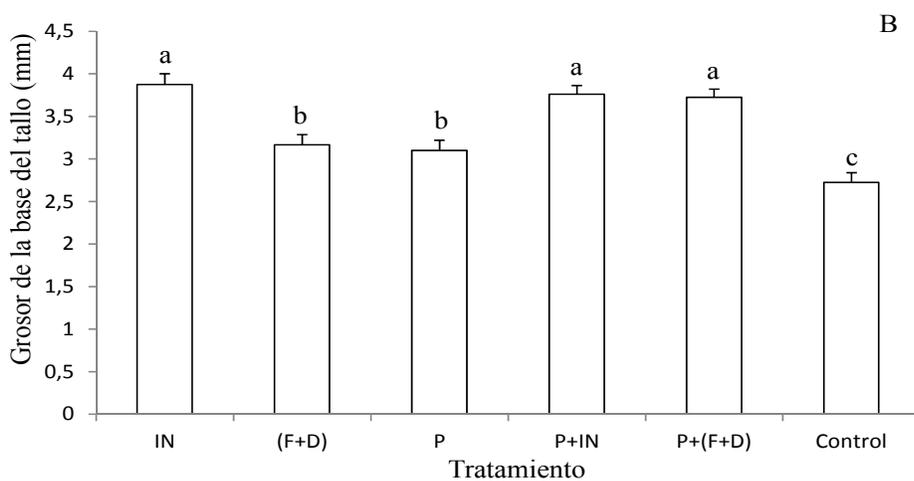
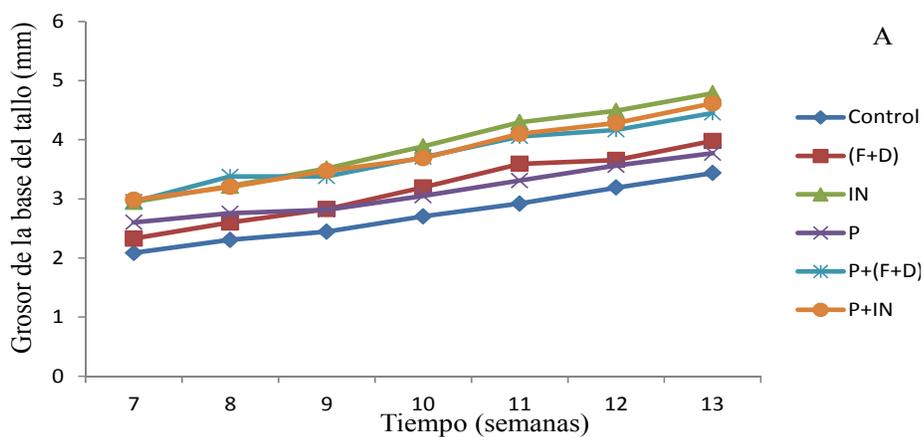


Figura 6. Variación temporal del grosor de la base del tallo (A), grosor durante el periodo de observación semanal (B) y grosor a cosecha (C) de *Passiflora edulis* sometida a diferentes tratamientos. IN: inoculo nativo; (F+D): *Funneliformis mosseae* + *Diversispora spurca*; P: 25 mg kg<sup>-1</sup> de fósforo (P); P+IN: 25 mg kg<sup>-1</sup> P + inoculo nativo; P+(F+D): 25 mg kg<sup>-1</sup> P + *Funneliformis mosseae* + *Diversispora spurca*; control. Los valores son los

promedios  $\pm$  ES (n=6 para A y C; n=42 para B). Las letras sobre las barras indican diferencias entre tratamientos.

Vale destacar que el ensanchamiento también podría deberse a un efecto hormonal, ya que la simbiosis micorrícica estimula la actividad metabólica radical y probablemente aumente la síntesis de citocininas en las raíces, donde se lleva a cabo este proceso (Salisbury y Ross, 1992; Srivastava, 2002). Las mencionadas fitohormonas activan la división celular y por consecuencia el crecimiento de diferentes órganos de la planta (Walch-Liu *et al.*, 2000). Estas observaciones indican que la planta en cuestión presenta cierta dependencia fisiológica de las micorrizas, como ocurre en otras especies vegetales, principalmente en sus primeras etapas de desarrollo (Salisbury y Ross, 1992; Lambers *et al.*, 1998).

### Área foliar

La Figura 7 y la Tabla 7 del apéndice muestran la existencia de diferencias significativas ( $F_s=5,25$ ;  $p=0,002$ ), observándose que las plantas inoculadas con HMA nativos con o sin la aplicación de P y P+(F+D) presentaron el mayor área foliar, seguidas de aquellas tratadas con (F+D); mientras que las del control alcanzaron la menor área foliar.

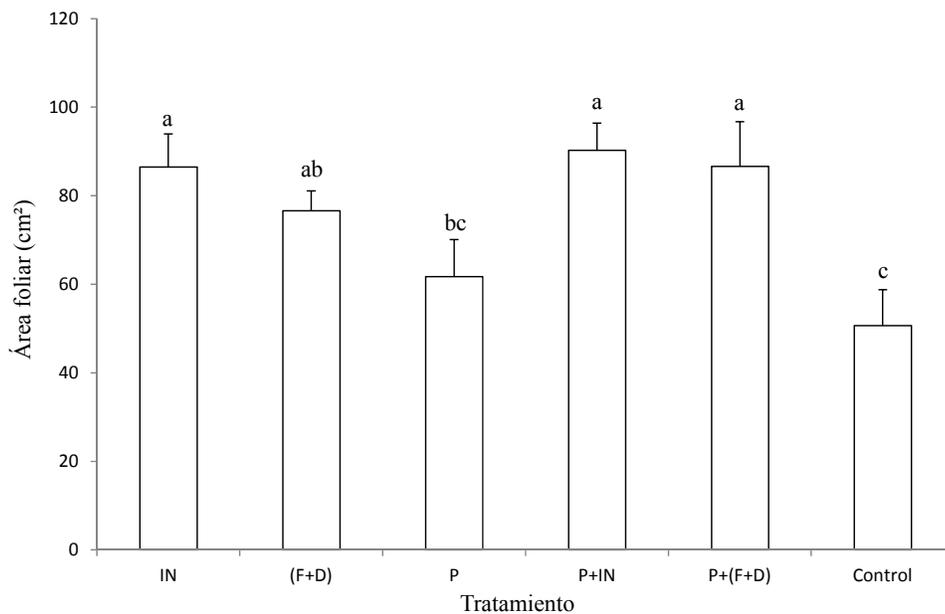


Figura 7. Área foliar a cosecha (semana 13) de *Passiflora edulis* sometida a diferentes tratamientos. IN: inoculo nativo; (F+D): *Funneliformis mosseae* + *Diversispora spurca*; P: 25 mg kg<sup>-1</sup> de fósforo (P); P+IN: 25 mg kg<sup>-1</sup> P + inoculo nativo;

P+(F+D): 25 mg kg<sup>-1</sup> P + *Funneliformis mosseae* + *Diversispora spurca*; control. Los valores son los promedios ± ES (n=6). Las letras sobre las barras indican diferencias entre tratamientos.

A diferencia de estos resultados, Pimienta-Barrios *et al.* (2009) encontraron que las micorrizas (*G. fasciculatum* y *G. intraradices*) no afectaron las variables relacionadas con el área (longitud y ancho foliar) del agave, en comparación con el control sin inoculación. Por su parte, Rivera *et al.* (2011) en aguacate, encontraron diferencias significativas en el área foliar cuando las plantas fueron inoculadas con *G. hoi-like* pero no con *F. mosseae*, con respecto al control, indicando que este último HMA, tal vez requiera de la combinación con *D. spurca* u otro hongo para mejorar dicho parámetro como fue encontrado en la presente investigación (Figura 7).

Al analizar fisiológicamente el comportamiento productivo de cualquier especie vegetal de interés agrícola, los incrementos de las variables de crecimiento y el rendimiento están estrechamente relacionados con los procesos fotosintéticos que ocurren en las hojas, por lo que es de vital importancia el análisis de las variables morfológicas vinculadas a este órgano. En este estudio las plantas micorrizadas mostraron mayor área foliar en comparación con las plantas no micorrizadas, esto puede deberse a que el establecimiento de la simbiosis mejora el estado hídrico de las plantas (Beltrano y Ronco, 2008) y la asimilación de nutrientes (Declerck, *et al.*, 1995; Cuenca *et al.*, 2007) para un mayor crecimiento de la longitud y ancho foliar, y por tanto, mayor área foliar, lo que conlleva a mejorar la eficiencia fotosintética al haber mayor superficie de absorción de luz, intercambio gaseoso, mayor maquinaria fotosintética y, finalmente, mejor bioproduktividad (Lorenzo, 1994; Gil, 1995).

#### 2.5.- Biomasa seca aérea

En cuanto a la acumulación de biomasa seca area a cosecha de *Passiflora edulis* (Figura 8 y Tabla 8 del apéndice), se encontraron diferencias significativas (Fs=9,03; p<0,001) entre tratamientos, con mayores promedios en las plantas cultivadas en suelos con IN y con P+IN, seguidas en orden decreciente por aquellas cosechadas de los suelos con P+(F+D), (F+D), P y control.

Los resultados concuerdan con los encontrados por Chacón y Cuenca (1998), quienes observaron que en plantas de guayaba micorrizadas (inóculos nativos y comerciales) se

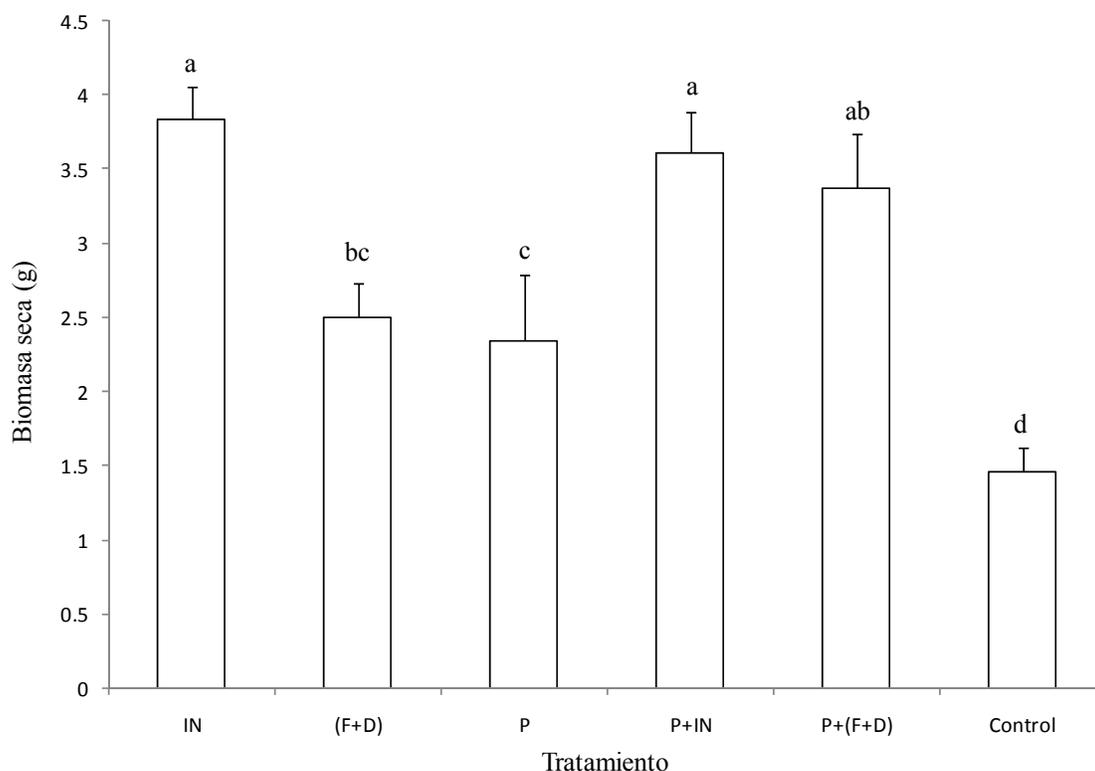


Figura 8. Biomasa seca aérea a cosecha (semana 13) de *Passiflora edulis* sometida a diferentes tratamientos. IN: inóculo nativo; (F+D): *Funneliformis mosseae* + *Diversispora spurca*; P: 25 mg kg<sup>-1</sup> de fósforo (P); P+IN: 25 mg kg<sup>-1</sup> P + inóculo nativo; P+(F+D): 25 mg kg<sup>-1</sup> P + *Funneliformis mosseae* + *Diversispora spurca*; control. Los valores son los promedios ± ES (n=6). Las letras sobre las barras indican diferencias entre tratamientos.

alcanzaron los mayores valores de biomasa seca con respecto al control no micorrizado; igualmente, la fertilización con superfosfato triple (SPT) unida a la inoculación con uno de los HMA comerciales (*Scutellospora fulgida*), produjo mejores resultados que los inoculados con *S. fulgida* sin SPT. También son similares a los de Flores y Cuenca (2004), quienes observaron mayores valores de biomasa seca en plantas de tara amarilla (*Oyedaea verbesinoides*) cuando el suelo fue inoculado con el HMA *Glomus manihotis* y mayores aun cuando se combinó este hongo con P, en comparación con las plantas solo fertilizadas con P y las del control. Del mismo modo, Usuga *et al.* (2008),

determinaron que al aplicar HMA en plantas de banano (*Musa* AAA cv. Gran Enano) (Musaceae) hubo mayor acumulación de biomasa que en plantas no micorrizadas.

Estudios en invernadero demuestran que la asociación simbiótica de los hongos micorrízicos en las raíces de las plantas producen diversos cambios y/o modificaciones a nivel fisiológico, entre los que destacan los incrementos en la actividad fotosintética (Auge, 2001), precedida de la regulación de sus movimientos estomatales y la evaporación, dichos procesos finalmente se traducen en una mayor acumulación de biomasa, por efecto de la mayor capacidad de fijación de CO<sub>2</sub>, lo cual concuerda con lo observado en este estudio, donde las plantas micorrizadas, principalmente aquellas cultivadas con IN y con P+IN, lograron una transformación de materia seca por encima de las plantas no micorrizadas (P y control). En los resultados obtenidos en este bioensayo los hongos MA evaluados, en comparación con el control, fueron capaces de aumentar la habilidad del sistema radical para absorber la humedad del suelo, abrir los estomas y fijar CO<sub>2</sub>, reforzando así la producción de biomasa seca.

En este sentido, los beneficios producidos por la asociación micorrízica, como es la estimulación fotosintética para la captura de carbono, compensa la transferencia continua que el micosimbionte demanda de su hospedera. De este modo la productividad tiende a mejorar cuando las plantas micorrizadas exhiben una alta tasa fotosintética (Martins *et al.*, 1997). En este caso, tal comportamiento preponderó mayor cantidad de biomasa aérea seca acumulada en las plantas de los tratamientos inoculados con HMA con respecto a las plantas no micorrizadas.

### **Contenido de fósforo foliar**

En lo que se refiere al contenido de P foliar de las plantas de parchita, se encontraron diferencias significativas entre los valores registrados de esta variable ( $F_s=5,77$ ;  $p=0,001$ ) (Tabla 9 del apéndice) y los distintos tratamientos, con mayores promedios en las plantas cosechadas de los tratamientos P+IN, P+(F+D), seguidos de los micorrizados con los inóculos nativo (IN) y comercial (F+D) sin fertilización fosfórica y, por último, las plantas fertilizadas solo con P y control (Figura 9).

Al igual que lo encontrado por Chacón y Cuenca (1998) en plantas de guayaba y por Flores y Cuenca (2004) en tara amarilla, en la presente investigación (Figura 9) la sola aplicación de los HMA incrementó el contenido de P en las hojas en comparación con

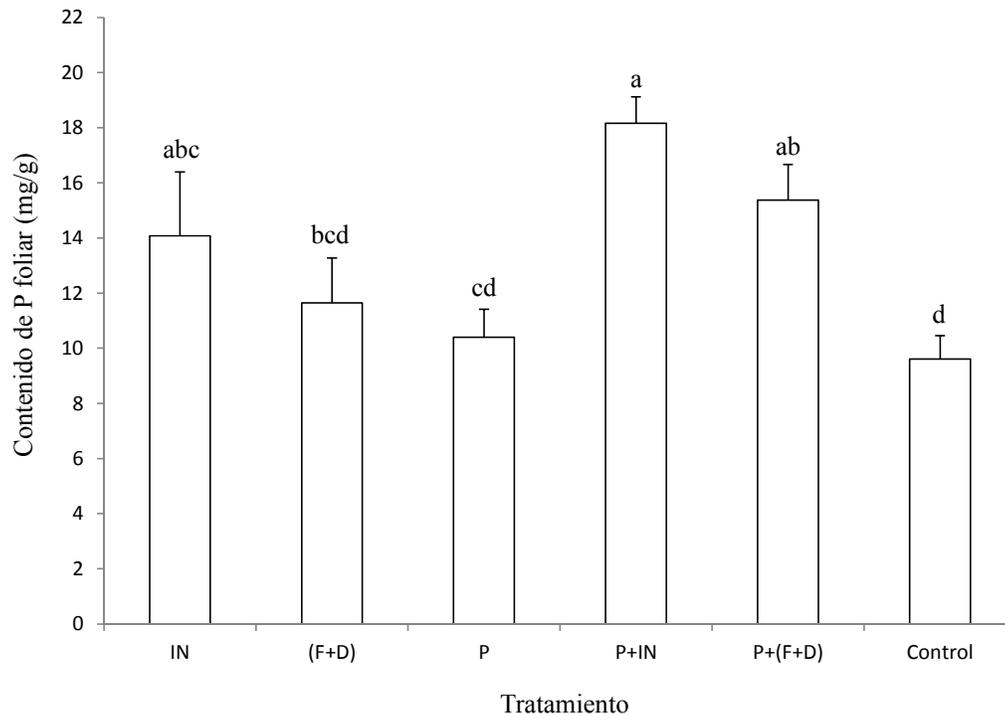


Figura 9. Contenido de fósforo foliar a cosecha (semana 13) de *Passiflora edulis* sometida a diferentes tratamientos. IN: inoculo nativo; (F+D): *Funneliformis mosseae* + *Diversispora spurca*; P: 25 mg kg<sup>-1</sup> de fósforo (P); P+IN: 25 mg kg<sup>-1</sup> P + inoculo nativo; P+(F+D): 25 mg kg<sup>-1</sup> P + *Funneliformis mosseae* + *Diversispora spurca*; control. Los valores son los promedios ± ES (n=6). Las letras sobre las barras indican diferencias entre tratamientos.

las tratadas solo con P y con las del control no micorrizado; además, la combinación de las micorrizas con la fertilización fosfórica incrementó aún más los valores.

Los mayores promedios de P en las plantas micorrizadas, indican que los HMA facilitaron el transporte de P hacia la planta (Gianinazzi-Pearson y Gianinazzi, 1986; Godbold, 1999), por lo que es prudente considerar las bondades agronómicas de este proceso en el desarrollo de las plantas, especialmente en los suelos tropicales donde el P es un factor limitante (Fairhurst *et al.*, 1999). Green *et al.* (1991), aseguran que la concentración de fosfatos en las hojas de una planta micorrizada son parte de los

cambios intrínsecos que los micosimbiontes son capaces de producir a nivel foliar, concordando con lo observado en la presente investigación.

Las mayores concentraciones de P foliar encontradas en las plantas micorrizadas se corresponden con los mayores valores encontrados en éstas para las variables de crecimiento y desarrollo de la parte aérea, ya que el fósforo es una de los principales macronutrientes requerido por las plantas y se acumula principalmente en las células en división activa. El fósforo desempeña un papel clave en la fotosíntesis, respiración, metabolismo energético (formación de ATP) y en la estructuras celulares, como en el caso de los enlaces diéster presentes en los ácidos nucleicos (ADN y ARN), fosfolípidos y en los fosfoaminoácidos que forman parte de fosfoproteínas, de allí que su deficiencia limita severamente el desarrollo de la planta (Azcón-Bieto y Talón, 2000).

Con relación a los fertilizantes fosfatados se ha establecido que en presencia de los HMA inducen en sus hospederos una mayor eficiencia, cuando éstos se aplican en cantidades moderadas que no inhiben la actividad micorrízica (Sieverding, 1991). Cada inóculo presenta una actuación diferente en el hospedero, dependiendo de la fertilización del suelo. Por esta razón, se considera a la fertilización fosfórica como un arma de doble filo para la infección micorrízica, ya que elevadas concentraciones de P puede inhibir la expresión de los beneficios de determinados HMA, mientras que concentraciones bajas de P puede inducir o acelerar el proceso de colonización del sistema radical del huésped. En vista de esto, se puede observar que la concentración usada ( $25 \text{ mg kg}^{-1}$ ) en la presente investigación, mejoró los parámetros de crecimiento y desarrollo antes mostrados, particularmente cuando se combinó con los inóculos nativo (P+IN) y comercial (F+D), más que cuando las plantas sólo fueron inoculadas con IN o con (F+D).

La aplicación del fósforo en los cultivos mejora el desarrollo de las plantas en general, como igualmente se pudo observar para *P. edulis* al aplicarle  $25 \text{ mg kg}^{-1}$  de P (Figuras 2, 4B, 5, 6B, 7 y 8) en comparación con el control; por lo cual se suelen añadir fertilizantes fosfatados en los cultivos, sin embargo, esto no le garantiza a la planta la incorporación

apropiada a sus tejidos para su buen funcionamiento (Kling, 1997; Valencia *et al.*, 2000; Johnson *et al.*, 1997; Smith *et al.*, 2000). En este sentido para la absorción de P existe una corresponsabilidad entre la planta y los organismos del suelo, en este caso los HMA, los cuales actúan movilizándolo el P hacia la raíz debido a que las hifas aumentan la afinidad radical por este nutriente, lo solubilizan en el suelo al liberar ácidos orgánicos y enzimas fosfatasa e incrementan su almacenamiento dentro del tejido vegetal (Harrison, 1997), de allí que la combinación del inóculo nativo y comercial con el fósforo [P+IN y P+(F+D)] aumentó la incorporación de P y, por ende, mejoró el crecimiento y desarrollo de la parchita.

### **Porcentaje de infección micorrizica**

#### **Frecuencia de micorrización (%F)**

La frecuencia de micorrización se muestra en la Figura 10, en ésta figura se puede observar los grupos formados producto de las diferencias estadísticas significativas encontradas ( $F_s=27,33$ ;  $p<0,001$ ; Tabla 10 del apéndice), siendo las plantas cultivadas en los suelos inoculados con HMA, con o sin P, las que alcanzaron mayores valores con respecto a las no micorrizadas.

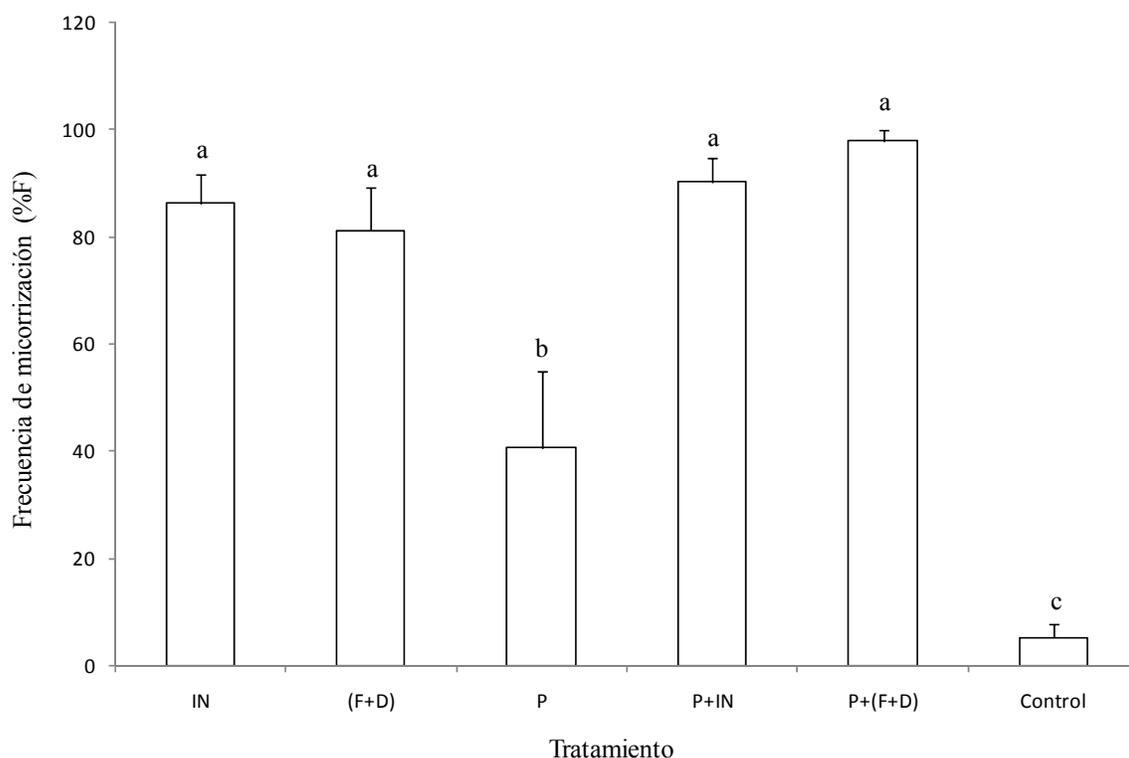


Figura 10. Frecuencia de micorrización a cosecha (semana 13) de *Passiflora edulis* sometida a diferentes tratamientos. IN: inoculo nativo; (F+D): *Funneliformis mosseae* + *Diversispora spurca*; P: 25 mg kg<sup>-1</sup> de fósforo (P); P+IN: 25 mg kg<sup>-1</sup> P + inoculo nativo; P+(F+D): 25 mg kg<sup>-1</sup> P + *Funneliformis mosseae* + *Diversispora spurca*; control. Los valores son los promedios ± ES (n=6). Las letras sobre las barras indican diferencias entre tratamientos.

#### 4.2.- Riqueza arbuscular (%A)

En cuanto a la riqueza arbuscular, se puede observar (Figura 11 y Tabla 11 del apéndice) que existieron diferencias significativas entre tratamientos ( $F_s=16,56$ ;  $p<0,001$ ), con máximos en las plantas cultivadas en suelos con inoculo nativo y comercial, combinados con fósforo [P+IN y P+(F+D)], seguido por las plantas de los tratamientos IN y (F+D). Las plantas no micorrizadas (P y control) tuvieron una riqueza arbuscular muy baja.

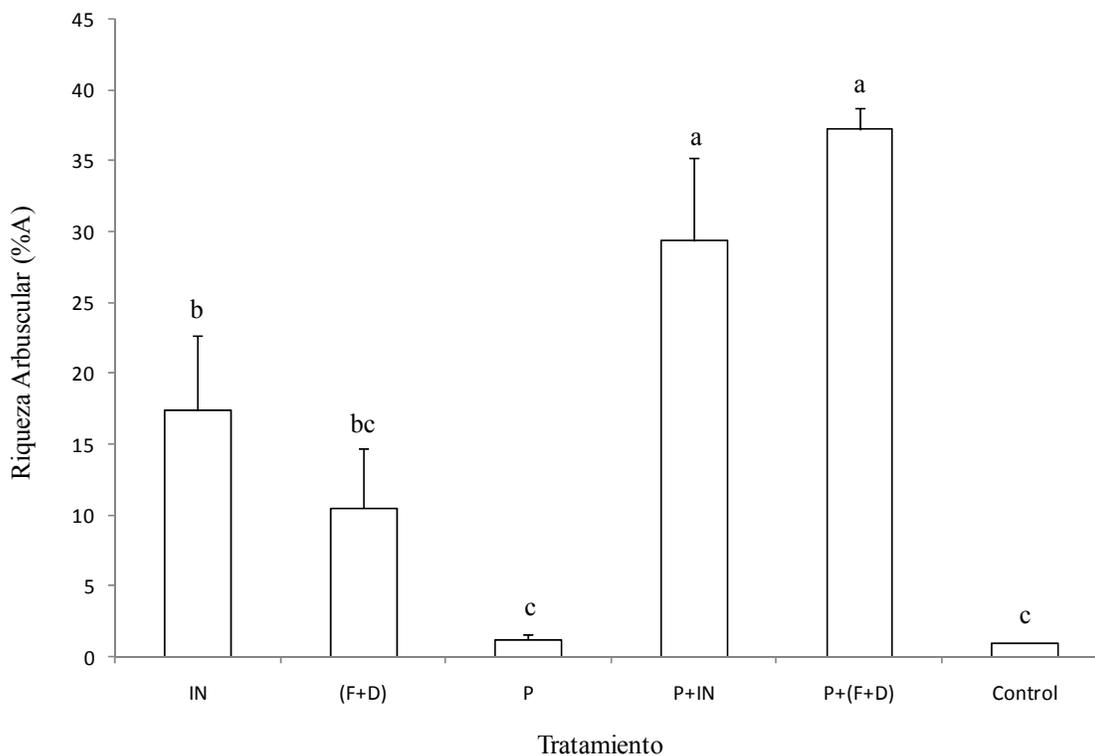


Figura 11. Riqueza arbuscular total a cosecha (semana 13) de *Passiflora edulis* sometida a diferentes tratamientos. IN: inoculo nativo; (F+D): *Funneliformis mosseae* + *Diversispora spurca*; P: 25 mg kg<sup>-1</sup> de fósforo (P); P+IN: 25 mg kg<sup>-1</sup> P + inoculo nativo; P+(F+D): 25 mg kg<sup>-1</sup> P + *Funneliformis mosseae* + *Diversispora spurca*; control. Los valores son los promedios ± ES (n=6). Las letras sobre las barras indican diferencias entre tratamientos.

Para Marschner y Dell (1994), la colonización micorrízica aumenta el desarrollo de las plantas al incrementar la asimilación de nutrientes por extensión del área superficial de absorción o por la movilización de las fuentes de nutrientes aprovechables (por la excreción de compuestos quelatantes), lo que contribuye a una mejor utilización de ciertas fuentes de fósforo orgánico por la planta micorrizada y una mayor tasa de flujo (dos a seis veces más) debido a la longitud de las hifas externas (Jakobsen *et al.*, 1992), de allí que las mayores frecuencias y riquezas de las plantas encontradas en los tratamientos micorrizados (Figuras 10 y 11), se corresponden con los máximos mostrados por las variables de crecimiento y desarrollo y por el contenido de P foliar (Figuras 2-9).

Se puede decir que la capacidad de las micorrizas para promover el desarrollo de los cultivos depende de dos factores: infectividad y efectividad. La infectividad se refiere a la capacidad del hongo para penetrar e invadir la raíz intensamente y explorar el suelo, así como su habilidad de persistir en el sistema productivo, la infectividad es directamente proporcional a la frecuencia de micorrización. Mientras que la efectividad del hongo se demuestra cuando mejora el desarrollo del hospedante ya sea en forma directa o indirecta, lo cual tiene que ver especialmente con la riqueza arbuscular, ya que los arbusculos representan el sitio de intercambio de fosfato y otros nutrientes entre el hongo y la planta, cuando estos están presente en grandes porcentajes son indicativos de una simbiosis efectiva (Smith y Read, 1997).

Se ha comprobado que los conceptos de infectividad y efectividad no están relacionados y se dice que los hongos micorrízicos arbusculares que establecen abundantemente colonización micorrízica (80–90%) no necesariamente inducirán mayores efectos, ya que se pueden encontrar hongos micorrízicos que colonicen la raíz en menor proporción (15–40%) y muestren excelentes efectos en la nutrición y crecimiento de la planta (Bago *et al.*, 2000). Así mismo, se ha establecido que los HMA que colonizan la raíz en más del 50% se consideran altamente infectivos (Bago *et al.*, 2000), por lo que se puede sostener que tanto los HMA nativos como *F. mosseae* y *D. spurca*, combinados o no con P (Figura 10) resultaron ser eficaces en igual magnitud (más de 80%F) para el establecimiento de la simbiosis efectiva con las plantas de parchita y por ende para los beneficios que ésta pudo aportarles (Figuras 2-8).

Es importante señalar que se reportaron bajos niveles de colonización en los tratamientos no inoculados con HMA (P y control; Figura 10), posiblemente debido a la contaminación involuntaria en la manipulación de las plantas y el suelo y también por la proximidad de las plantas, ya que pudo haber dispersión de esporas desde las plantas inoculadas con HMA hasta las no inoculadas con hongo. Sin embargo, los bajos valores de riqueza arbuscular mostrados para estos tratamientos (Figura 11) evidencian que la simbiosis no fue efectiva como en los demás tratamientos.

Se ha señalado que los arbuscúlos representan el sitio de intercambio de fosfato y otros nutrientes entre el hongo y la planta (Smith y Read, 1997), por lo que se espera una mejoría en el desarrollo vegetal cuando éstos se presentan de manera adecuada en el sistema radical. Se puede observar que la combinación de fósforo tanto con el inóculo nativo como el comercial, mejoró la formación de arbuscúlos (Figura 11), lo que indica que a esta concentración ( $25 \text{ mg kg}^{-1}$ ), el P permite aumentar la formación de arbuscúlos por parte de los HMA, más que cuando este elemento no fue aplicado. Estos resultados muestran una correspondencia entre la formación de arbuscúlos, por parte del inóculo comercial, con el crecimiento y desarrollo de *P. edulis*; sin embargo, aun cuando las plantas del inóculo nativo sin la aplicación de P no mostraran igual formación de arbuscúlos como cuando se combinó con fosforo, el crecimiento y desarrollo no fue disminuido (Figuras 2, 4B, 5, 6B, 7 y 8), indicando que posiblemente esa cantidad de arbuscúlos fue suficiente para que las plantas mantuvieran una buena fisiología y por ende un buen desarrollo.

#### **Identificación de los HMA presentes en el inóculo nativo**

La Figura 12 muestra las esporas presentes en el inóculo nativo, en ésta se identificaron nueve especies pertenecientes a la división Glomeromycota y al suborden Glominae; de éstas cuatro pertenecen a la familia Acaulosporaceae (*Acaulospora* cf. *bireticulata*, *Acaulospora* cf. *denticulata*, *Acaulospora* cf. *foveata* y *Acaulospora* sp.), tres forman parte de Glomaceae (*Funneliformis* cf. *badium*, *Glomus* cf. *tortuosum* y *Glomus* sp.), otra está incluida dentro de Gigasporaceae (*Scutellospora* sp.) y la especie *Ambispora* cf. *gerdermannii* incluida dentro de la familia Archaeosporaceae.

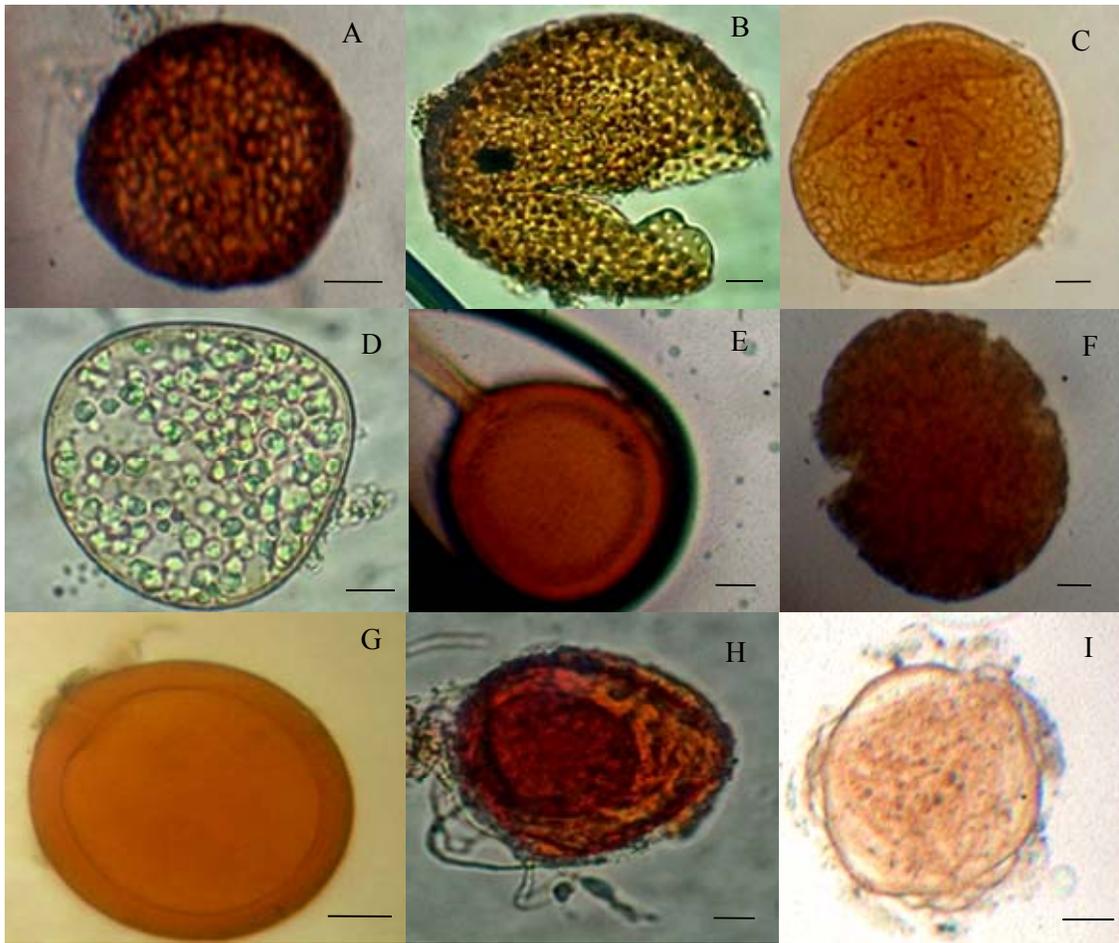


Figura 12. Esporas presentes en el inoculo nativo. A: *Acaulospora* cf. *bireticulata*; B: *Acaulospora* cf. *denticulata*; C: *Acaulospora* cf. *foveata*; D: *Acaulospora* sp.; E: *Funneliformis* cf. *badium*; F: *Glomus* cf. *tortuosum*; G: *Glomus* sp.; H: *Scutellospora* sp.; I: *Ambispora* cf. *gerdermannii*. Barra=15 $\mu$ .

Las esporas son estructuras de resistencia o sobrevivencia de los HMA desarrolladas a partir de una clamidospora o bien a partir del micelio originado en una raíz previamente infectada (Gerdemann y Trappe, 1974; Morton, 1993; Velandia, 2006). La distribución y riqueza de los HMA en los suelos ha sido estudiado desde hace varias décadas basándose en la identificación de esporas, agrupándolos según sus características morfológicas comunes. Dicha identificación permite saber la composición de los HMA en diferentes ecosistemas y arroja una visión de su posible preferencia por los distintos tipos de plantaciones, lo cual es de suma importancia en la agricultura sostenible ya que de esta manera podría hacerse un uso más eficiente de los beneficios de la relación

micorrízica (Cuenca *et al.*, 2007).

La taxonomía de los Glomeromycota, al igual que la de muchos otros grupos de hongos, se ha basado en el estudio de los rasgos morfológicos de las esporas, los cuales son los más frecuentemente utilizados junto con otras estructuras fúngicas como el color, tamaño, forma y estructura de la pared celular, permitiendo agrupar, muchas veces de forma artificial, los diferentes hongos de la naturaleza. Para el caso concreto de los hongos formadores de micorrizas arbusculares, no existen claves actualizadas o completas que permitan identificar claramente los organismos colectados en la naturaleza (Peña-Venegas *et al.*, 2006).

La principal dificultad para que se produzca una adecuada colonización micorrízica, radica en que los hongos formadores de micorrizas arbusculares poseen una baja especificidad por la planta hospedera, a pesar de lo cual, se han observado diferencias en la efectividad de la simbiosis entre los distintos aislados y su adaptación a diversas condiciones edáficas (Camprubi *et al.*, 2000). En efecto, la afinidad de diversos HMA con el hospedero se traduce en la obtención de máximos beneficios (Camprubi *et al.*, 2000), lo que se evidencia en el presente estudio por el pool de esporas de HMA encontrado en el inóculo nativo (Figura 12), que posiblemente actúan sinérgicamente para proporcionar una buena asociación para un mejor desarrollo vegetal como fue observado en las plantas inoculadas con los hongos nativos en comparación con las inoculadas con (F+D) (Figuras 4-9). En particular, Agustí (2000), señala que los patrones de crecimiento de cítricos difieren según la dependencia de los hongos formadores de micorriza arbuscular.

En un estudio realizado en Colombia, se determinó que los géneros más comunes y eficientes relacionados con los diferentes cultivos evaluados de *Manihot esculenta* (yuca) para suelos colombianos son *Glomus*, *Entrophospora* y *Acaulospora* (Cadavid, 2000). Peña-Venegas *et al.* (2006) identificaron 31 morfotipos de HMA en estudios realizados sobre la riqueza y abundancia de los HMA en suelos de bosques y suelos bajo cultivo de la Amazonia colombiana, lo cual sirve de referencia para el mejor uso de

estos microorganismos como biofertilizantes en la zona estudiada. Marcano (2012) en suelos del sistema de producción agrícola de la granja “La Esperanza”, del estado Sucre, cultivados con *Manihot esculenta*, *Saccharum officinarum* y *Musa paradisiaca*, aisló 21 especies de HMA, de las cuales identificó diecisiete morfotipos del género *Glomus* (entre ellos *Glomus* cf. *tortuosum*) y dos de *Acaulospora*; mientras que, en los suelos de producción pecuaria, cultivados con *Cynodon nlemfuensis* y *Pennisetum purpureum*, aisló 17 especies de HMA, identificando once géneros pertenecientes al género *Glomus*, un *Acaulospora* y un *Ambispora*. Todo esto, en conjunto con las especies encontradas para la parchita en el presente estudio, soporta la idea de que diferentes plantas hospederas pueden favorecer diferentes poblaciones de HMA en el suelo alrededor de un sistema de raíz.

En resumen, los resultados demuestran que el crecimiento y desarrollo de *P. edulis* se ve mejorado cuando el suelo es inoculado con HMA nativo o con *F. mosseae* + *D. spurca*; sin embargo, este último inóculo comercial es más efectivo cuando se combina con 25 mg kg<sup>-1</sup> de fosforo.

## CONCLUSIONES

El uso de HMA (nativo y *Funneliformis mosseae* + *Diversispora spurca*) contribuye a mejorar el nivel nutricional de *Passiflora edulis*, lo que se ve reflejado en mayor crecimiento en altura, grosor de la base del tallo, número de hojas, área foliar y biomasa seca de la planta.

La parchita es una planta dependiente de los HMA, ya que requiere de esta asociación simbiótica para alcanzar su mayor nivel de desarrollo.

En cuanto a la absorción de nutrientes, los HMA nativos y *F. mosseae* + *D. spurca* tienden a mejorar el ingreso de fósforo (y posiblemente otros nutrientes) a la planta y por ende el crecimiento y desarrollo.

El mayor o menor beneficio para la planta proporcionada por la simbiosis está relacionado directamente con el % de infección, dado por la compatibilidad planta-HMA.

La clasificación taxonómica de las especies de hongos formadores de micorrizas arbusculares presentes en los tratamientos con inóculos nativos, revela un pool de especies micorrizogenas que trabajan sinérgicamente en la producción del mayor beneficio para ambos simbioses.

El empleo de la inoculación con hongos micorrízicos arbusculares demuestra ser una práctica efectiva para la mejora en la producción de *P. edulis*, constituyendo una alternativa ecológica válida para la fertilización bajo las condiciones edafoclimáticas del estado Sucre.

## RECOMENDACIÓN

Se puede sugerir, para el cultivo de la parchita, la evaluación de las especies de HMA presentes en el suelo a cultivar para verificar la presencia de las especies nativas aquí reportadas, de estar presentes, es recomendable no aplicar un inóculo comercial para evitar posibles alteraciones de las especies nativas pero en caso de no estar presentes dichas especies, puede aplicarse un inóculo comercial con *F. mosseae* + *D. spurca*, combinado con 25 mg kg<sup>-1</sup> de fosforo, que seguramente también dará buenos resultados.

En vista de que el procedimiento para determinar el porcentaje de infección micorrízica solo requiere de la utilización de aproximadamente 2 g de raíces, en trabajos posteriores debería usarse el resto del sistema radical para hacer otras determinaciones como biomasa seca radical, relación biomasa seca raíz/tallo, determinación de nutrientes (principalmente P), entre otras, a fin de aportar mayor información que contribuya al manejo del cultivo en estudio.

Para la presente investigación, por cuestiones prácticas y en vista de que se trataba de un ensayo a pequeña escala y en un vivero, se usó Fosfopoder 25%, el cual es un fertilizante químico no agroecológico, pero para estudios a mayor escala y directamente en el campo se recomienda el uso de fertilizantes fosfatados de tipo agroecológico, como la roca fosfórica u otro que favorezcan una agricultura sostenible.

## BIBLIOGRAFÍA

Abou, K.; Pineda, D.; Guillen, J.; Parada, Y. y Sánchez, A. 2007. Comercialización de la parchita. Programa: Ingeniería de la producción agropecuaria. <<http://mercadoparchita.blogspot.com> (5-05-2012).

Agustí, M. 2000. *Citricultura*. Barcelona Ediciones Mundi Prensa. Barcelona. Pág. 416.

Allen, E; Espejel, I. y Sigüenza, C. 1996. Restoration and sustainability of mycorrhizal fungi. En: *Mycology and sustainable development: expanding concepts, vanishing borders*. Palm, M. y Chapela, I. (eds). Carolina del Norte. Págs. 148-159.

Augé, R. 2001. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza*, 11:3-42.

Azcón-Aguilar, C. y Barea, J. 1996. Arbuscular mycorrhizal and biological control of soil-borne plant pathogens an overview of the mechanisms involved. *Mycorrhiza*, 6: 457-464.

Azcón-Bieto, J. y Talón, M. 2000. *Fundamentos de fisiología vegetal*. McGraw-Hill Interamericana. Madrid.

Bago, B.; Azcón-Aguilar, C. y Piché, Y. 1998. Architecture and developmental dynamics of the external mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* grown under monoxenic conditions. *Mycologia*, 90(1): 52-62.

Bago, B.; Pfeffer P,y Shachar-Hill, Y. 2000. Carbon Metabolism and Transport in Arbuscular Mycorrhizas. *Journal Plant Physiology*,124: 949-95.

Bago, B.; Pfeffer, P.; Abubaker, J.; Jun, J.; Allen, J.; Brouillette, J.; Douds, D.; Lammers, P. y Shachar-Hill, Y. 2003. Carbon export from arbuscular mycorrhizal roots involves the translocation of carbohydrate as well as lipid. *Plant Physiology*, 131: 1-11.

Barea, J. y Jeffries, P. 1995. Arbuscular mycorrhizas in sustainable soil-plant systems. En: *Mycorrhiza, structure, function, molecular biology and biotechnology*. Varma, A. Hock, B. (eds) Wiley, New York. Págs: 521-550.

Barea, J.; Andrade, G.; Bianciotto, V.; Dowling ,D.; Lohrke, S.; Bonfante, P.; O'Gara, F. y Azcón-Aguilar, C. 1998. Impact on arbuscular mycorrhiza formation of *Pseudomonas* strains used as inoculants for the biocontrol of soilborne plant fungal pathogens. *Applied Environmental Microbiology*, 64: 2304-2307.

Beltrano, J. y Ronco, M. 2008. Improved tolerance of wheat plants (*Triticum aestivum* L.) to drought stress and rewatering by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus*

*claroideum*: Effect on growth and cell membrane stability. *Brazilian Journal Plant Physiology*, 20(1): 29-37.

Bentivenga, P. y Morton J. 1995. A monograph of the genus *Gigaspora*, incorporating developmental patterns of morphological characters. *Mycologia*, 87(5): 719-731.

Biró, I. y Trakács, T. 2006. Study of adaptability of different *Glomus mosseae* strains to soil heavy metal content. *Cereal Research Communications*, 34(1): 127-130.

Bolan, N. 1991. A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. *Plant and Soil*, 134:189-207.

Brack, A. 1999. *Diccionario enciclopédico de plantas útiles del Perú*. Editorial, Cuzco, Perú: Centro de Estudios Regionales Andinos Bartolomé de las Casas.

Cabello, M. 1999. Effectiveness of indigenous arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) isolated from hydrocarbon polluted soils. *Journal of British Microbiological*, 2: 89-95.

Cadavid, L. 2000. Nutrición del cultivo de yuca (*Manihot esculenta*). En: Cursos de capacitación en sistemas de producción *Manihot esculenta*, Santo Domingo de los Colorados, Ecuador. Consorcio Latinoamericano y del Caribe de Apoyo a la Investigación y Desarrollo de la *Manihot esculenta*. Editorial Palmira. Colombia.

Chacón, A. y Cuenca, G. 1998. Efecto de las micorrizas arbusculares y de la fertilización con fósforo, sobre el crecimiento de la guayaba en condiciones de vivero. *Agronomía Tropical*, 48(4): 425-440.

Chapman, H. y Pratt, P. 1973. *Métodos de análisis para suelos, plantas y aguas*. Trillas. México.

Camprubí, A. y Estaún, V. 2000. Micorrizas arbusculares en producción agrícola. *Horticultura*. España. Págs. 38-41.

Campos, A. 1994. Evaluación de *Rhizobium* sp. y *Bradyrhizobium* sp. en frijol (*Vigna unguiculata* L. Walp) nativos de diferentes áreas de producción del Estado Monagas y evaluación de desinfección del suelo. Trabajo de Ascenso. Escuela de Ingeniería Agronómica, Universidad de Oriente, Maturín, Venezuela.

Caravaca, F.; Alguacil, M.; Barea, J. y Roldán, A. 2005. Survival of inocula and native AM fungi species associated with shrubs in a degraded mediterranean ecosystem. *Soil Biology and Biochemistry*, 37:227-238.

Carpintero, S. 2006. Evaluación de micorrizas arbusculares en algunas especies vegetales estudiadas en un bosque muy seco tropical y un bosque seco tropical en las localidades de Los Cachicatos y Chiguana en el Estado Sucre. Trabajo de grado.

Departamento de Biología, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.

Carrenho, R.; Silva, E.; Botelho, S. y Ramos, V. 2001. Successive cultivation of maize and agricultural practices on root colonization, number of spores and species of arbuscular mycorrhizal fungi. *Brazilian Journal of Microbiology*, 32: 262-270.

Casierra-Posada F.; Peña, G. y Peña-Olmos, J. 2007. Estimación indirecta del área foliar en *Fragaria vesca* L., *Physalis peruviana* L., *Acca sellowiana* (Berg.) Burret, *Rubus glaucus* L., *Passiflora mollissima* (Kunth) L. H. Bailey Y *Ficus carica* L. *U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 11(1): 95-102.

Cuenca, G.; Herrera, R. y Meneses, E.1990. Effect of VA mycorrhiza on the growth of cocoa seedlings under nursery conditions in Venezuela. *Plant Soil*, 126: 71-78.

Cuenca, G.; Cáceres, G.; Oirdobro, Z.; Hasmy, Z. y Urdaneta, C. 2007. Las micorrizas arbusculares como alternativa para una agricultura sustentable en áreas tropicales. *Interciencia* 32(1): 23-29.

Daniels, B. y Trappe, J. 1980. Factors affecting spore germination of the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus epigaeus*. *Mycologia*, 72: 457-471.

Dannowski, M. y Werner, A. 1997. The importance of plant roots for ecological assessment of soil structure in laboratory and in the landscape. *Australian Journal Agriculture Research*, 48(2): 73-88.

Day, L.; Sylvia, D; y Collins, M. 1987. Interactions among vesicular-arbuscular mycorrhizae, soil and landscape position. *Soil Science Society of American Journal*, 5: 635-639.

Declerck, S.; Devos, B.; Delvaux, B. y Plenchette, C. 1994. Growth response of micropropagated banana plants to VAM inoculation. *Fruits*, 49(2):103-109.

Declerck, S.; Plenchette, C. y Strullu, D. 1995. Mycorrhizal dependency of banana (*Musa acuminata*, AAA group) cultivar. *Plant and Soil*, 176:183-187.

Desmarchelier, C. y Witting, F. 2000. *Setenta plantas medicinales de la Amazonía peruana*. Bellido. Lima.

Douds, D.; Galvez, L; Bécard, G. y Kapulnik, Y. 1998. Regulation of arbuscular mycorrhizal development by plant host and fungus species in alfalfa. *New Phytologist*, 138: 27-35.

Dodd, C.; Clapp, J. y Zhao, B. 2001. "Arbuscular mycorrhizal fungi in plant production systems: detection, taxonomy, conservation and ecophysiology". <[http://www2.dijon.inra.fr/mychintec/Protocole/Workshop\\_Procedures.html](http://www2.dijon.inra.fr/mychintec/Protocole/Workshop_Procedures.html)>. (20-04-2012).

- Duke, E.; Johnson, C. y Koch, K. 1986. Accumulation of phosphorus, dry matter and betaine during NaCl stress of split root citrus seedling colonized with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in zero, one or two half. *New Phytologist*, 104: 583-590.
- Estrada, G. y Sánchez, M. 1995. Dependencia del café *Coffea arabica* L. var. Colombia por la micorriza vesículo-arbuscular. *Acta Agronómica*, 45: 85-88.
- Fairhurst, T.; Lefroy, R.; Mutert, E. y Batjes, N. 1999. The importance, distribution and causes of phosphorus deficiency as a constraint to crop production in the tropics. *Agroforestry Forum*, 9: 2-8.
- Fernández, L.; Zalba, P. y Gómez, P. 2005. Bacterias solubilizadoras de fosfato inorgánico aislada de los suelos de la región sojera. *Ciencia del Suelo*, 23: 31-37.
- Ferrera-Cerrato, R. y Alarcón, A. 2008. Biotecnología de los hongos micorrízicos arbusculares. En: *Biofertilización como tecnología sostenible*. Díaz, A. y Mayek, N. (eds.), Plaza y Valdéz. CONACYT. págs. 25-38.
- Flores-Bello, M.; Aguilar-Espinosa, S.; García, R.; Zamora, A.; Farias-Larios, J.; López-Aguirre, J. 2008. Inoculación con hongos micorrízicos arbusculares y el crecimiento de plántulas de leucaena. *Terra Latinoamericana*, 26 (2): 127-131.
- Flores, C. y Cuenca, G. 2004. Crecimiento y dependencia micorrízica de la especie pionera y polenectarífera *Oyedaea verbesinoides* (tara amarilla), Asteraceae. *Interciencia*, 29(11): 632-637.
- Galindo, V. 2000. Maracuyá seminario de agronegocios. Lima.
- Garnier, E.; Salager, J.; Laurent, G. y Sonié, L. 1999. Relationships between photosynthesis, nitrogen and leaf structure in 14 grass species and their dependence on the basis of expression. *New Phytologist*, 143(1): 119-129.
- García-Garrido, J. y Ocampo, J. 1989. Interacción entre *Glomus mosseae* y *Pseudomonas syringae* en la rizosfera de plantas de tomate. *Anales de Edafología y Agrobiología*, 5: 1679-1685.
- Gerdemann, J. y Nicolson, T. 1963. Spore mycorrhizal endogone extracted soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society*, 73: 261-270.
- Gerdemann J. y Trappe, J. 1974. The Endogonales in the Pacific Northwest, *Mycological Memoirs*, 5: 29-30.
- Gerdemann, J. y Nicolson, T. 1963. Spore mycorrhizal endogone extracted soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society*, 73: 261-270.

Gianinazzi-Pearson, V. y Gianinazzi S. 1986. The physiology of improved phosphorus nutrition in mycorrhizal plants. En: *Physiological and Genetics aspect of Mycorrhizae*. Gianinazzi-Pearson, V. y Gianinazzi, S. (Eds.). Inra. París. Pág. 101-109.

Gil, M. 1995. *Elementos de fisiología vegetal*. Ed. Mundiprensa. Madrid. Pág. 1047.

Godbold, D. 1999. The role of mycorrhiza in phosphorus acquisition. *Agroforestry Forum*, 9: 25-27.

González-Chávez, M. y Ferrera-Cerrato, R. 1993. Influencia de la endomicorriza vesículo-arbuscular en cuatro variedades de café. En: *Avances de investigación. Sección de Microbiología de suelos*. Pérez, M. y Ferrera-Cerrato R. (Eds.). Centro de Edafología, Colegio de Postgraduados, Montecillo, Estado de México. págs. 100-112.

Green, R.; Beard, B. y Oprisko, M. 1991. Root hairs and root lengths in nine warm-season turfgrass genotypes. *Journal of the American Society Horticultural Science*, 116, 965-969.

Gross, E.; Cordeiro, L. y Caetano, F. 2003. Anatomical and ultrastructural aspects of root and mycorrhiza of *Anadenanthera peregrina* (L.) Speg. var. *falcata* (Benth.) Altschul (Leguminosae-Mimosoideae). *Revista Brasileira de Botânica*, 26(4): 515-523.

Gross, K.; Watada, A.; Kang, S.; Kim, S. y Lee, S. 1986. Biochemical changes associated with the ripening of hot pepper fruit. *Physiologia Plantarum*, 66:31-36.

Haddad, O. y Millán, M. 1975. La parchita maracuyá. Boletín técnico. N° 2. 282. Caracas.

Harrison, J. 1997. The arbuscular mycorrhizal symbiosis: An underground association. *Elsevier Trends Journal*, 2(2): 54-60.

Hayman, D. 1987. Practical aspects of vesicular-arbuscular micorriza. En: *Advances in Agricultural Microbiology*. Subba, N. (Ed). INH, New Delhi. Págs. 325-373.

Hernández, D. 2000. Las micorrizas. *Terralia*, 14:12-19.

Herrera, R.; Ferrer, R.; Furrázola, E. y Orozco, M. 1995. Estrategias de funcionamiento de las micorrizas VA en un bosque tropical. Diversidad en Iberoamérica. En: *Ecosistemas, Evolución y Procesos sociales*. Monasterio, M. (ed). Programa de Ciencia y Tecnología para el desarrollo. Subprograma XII, Diversidad Biológica, Mérida. Págs. 25-33.

Howell, C. 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. *Plant Disease*,

87 (1): 4-10.

International Culture Collection of Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Fungi (INVAM). 1999. "Taxonomy of the fungi mycorrhizal arbuscular". <<http://invam.caf.wvu.edu/fungi/taxonomy/mycorrhizas>>. (5-01-2012).

Jakobsen, I.; Abbott, L. y Robson, A. 1992. External hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Trifolium subterraneum* L. Spread of hyphae and phosphorus in flow into roots. *New Phytologist*, 120: 371–380.

Johnson, N.; Graham, J. y Smith, F. 1997. Functioning of mycorrhizal associations along the mutualism-parasitism continuum. *New Phytologist*, 135: 575-586.

Kennedy, A. y Smith, K. 1995. Soil microbial diversity and the sustainability of agricultural soils. *Plant and soil*, 170(1): 75-86.

Kim, K.; Cho, Y.; Sohn, B.; Park, D.; Shim, J.; Jung, S.; Kim, Y. y Seong, K. 2002. Cold- storage of mixed inoculum of *Glomus intraradices* enhances root colonization, phosphorus status and growth of hot pepper. *Plant Soil*, 238: 267-272.

Kling, M. 1997. The importance of early establishment mycorrhizas for P uptake and plant growth. En: *phosphorus balance and utilization in agriculture-towards sustainability workshop*. The royal swedish academy of agriculture and forestry library (ed). Stockholm. Págs. 125-129.

Lambers, H.; Chapin, F. y Pons, T. 1998. *Plant physiological ecology*. Springer Verlag. Nueva York. Págs. 540.

Lárez, C. 1991. Efecto de la micorriza nativa y la aplicación de N-P-K sobre la micorrización, contenidos minerales, crecimiento y desarrollo de yuca (*Manihot sculenta* Crantz). Trabajo para ascender a la categoría de titular, Universidad de Oriente, Monagas.

Liasu, M. y Ogundola, A. 2006. Effects of pre- and post-transplant inoculation with *Glomus mosseae* on heavy metal (cadmium) absorption by potted tomato plants. *Middle East Journal of Scientific Research*, 1(1): 16-22.

Lorenzo, M. 1994. Intercepción de luz, bioproductividad e intercambio gaseoso durante la ortogenia de un cultivo invernadero de *Cucumis sativus*, en Almería. Trabajo de Grado. Universidad de Barcelona. pág. 220.

Lynch, 1990. Beneficial interactions between micro-organisms and roots. *Biotechnology Advances*, 8: 335-346.

Marcano, R. 2012. Evaluación de micorrizas arbusculares en dos sistemas de

producción, agrícola y pecuario, en la “Granja la Esperanza” en el sector Tarabacoa, municipio Bolívar del estado Sucre. Trabajo de Grado. Departamento de Biología, Universidad de Oriente. Sucre. Cumaná.

Marler, M.; Zabinski, C. y Callaway, R. 1999. Mycorrhizae indirectly enhance competitive effects of an invasive forb on a native bunchgrass. *Ecology*, 80(4): 1180-1186.

Marschner, H. y Dell, B. 1994. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. En: Robson, A.; Abbott, L. y Malujezuk, N. (eds.). *Management of mycorrhizal in agriculture, horticulture and forestry*. Kluwer Academic Publisher. Netherlands. Págs. 89-102.

Martin, W. y Nakasone, H. 1970. The edible species of *Passiflora*. *Economic Botany*, 24: 333-343.

Martin, T.; Hellman, H.; Schmidt, R.; Willmitzer, L. y Frommer, W. 1997. Identification of mutants in metabolically regulated gene expression. *Plant Journal.*, 11: 53-62.

Morton, J. 1993. Traditional definitions of spore morphological characters. “International culture of arbuscular and vesicular-arbuscular fungi” <<http://invam.caf.wvu.edu/fungi/taxonomy/mycorrhizas>>. (5-01-2012).

Mosse, B. 1991. Advances in the study of VAM. *Annual Review of Phytopathology*, 11: 171-196.

Murkute, A.; Sharma, S. y Singh, S. 2006. Studies on salt stress tolerance of citrus rootstock genotypes with arbuscular mycorrhizal fungi. *Horticultural Science (Prague)*, 33(2): 70-76.

Natural products alert (NAPRALERT SM). 2001. Profile for *Passiflora edulis*. The Board of Trustees of the University of Illinois. Chicago.

Patton, L. y Jones, M. 1989. Some relationships between leaf anatomy and photosynthetic characteristics of willows. *New Phytologist.*, 111(4): 657-661.

Pfeffer, P.; Douds, D.; Bécard, G. y Shachar-Hill, Y. 1999. Carbon uptake and the metabolism and transport of lipids in an arbuscular mycorrhiza. *Plant Physiology*, 120: 587-598

Phillips, M. y Haymann, D. 1970. Improved procedure for clearing roots and staining parasitic and vesicular - arbuscular micorrhizae fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 55(1): 158 - 161.

Peña-Venegas, C.; Cardona, G.; Mazorra, A.; Arguellez, J. y Arcos A. 2006. *Micorrizas arbusculares de la amazonia colombiana*. Catalogo Ilustrado. Instituto Amazónico de

Investigaciones Científicas SINCHI. Colombia.

Peralta, M. 1995. Guía N° 2 de Edafología, Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Forestales, Departamento de Silvicultura.

Pérez, D. y Rosales, L. 2005. Prepare sus viveros de parchita: asegure plantas sanas y de calidad, de rápido establecimiento y desarrollo del cultivo. *Revista Digital del Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias de Venezuela*. <http://sian.inia.gob.ve>. (02-05-2012)

Peterson, R.; Massicotte, H. y Melville, L. 2004. *Mycorrhizas: Anatomy and cell biology*. CABI publishing. Ottawa, Canadá.

Pimienta-Barrios, E.; Zañudo-Hernández, J. y López -Alcocer, E. 2009. Efecto de las micorrizas arbusculares en el crecimiento, fotosíntesis y anatomía foliar de plantas jóvenes de *Agave tequilana*. *Acta Botanica Mexicana*, 89: 63-78.

Porter, W.; Robson, A. y Abbott, L. 1987. Field survey of the distribution of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in relation to soil pH. *Journal of Applied Ecology*, 24: 659-662.

Powell, C. y Bagyaraj, D. 1984. *VA Mycorrhiza*. Boca Raton, CRC Press.

Rabie, G. 2005. Contribution of arbuscular mycorrhizal fungus to red kidney and wheat plants tolerance grown in heavy metal-polluted soil. *African Journal of Biotechnology*, 4(4): 332-345.

Rabie, G. y Almadini, A. 2005. Role of bioinoculants in development of salt-tolerance of *Vicia faba* plants under salinity stress. *African Journal of Biotechnology*, 4(3): 210-222.

Rivera, R.; Martín V.; Calderón, A. y Torrez, A. 2011. Utilización de cepas eficientes de hongos micorrizicos arbusculares en el desarrollo de portainjertos de aguacate en un sustrato suelo- cachaza. *Cultivos Tropicales*, 32(2): 172-183.

Robertson, S.; McGill, W.; Massicote, H. y Rutherford, P. 2007. Petroleum hydrocarbon contaminate in boreal forest soils: a mycorrhizal ecosystem perspective. *Biological reviews*, 82: 213-240.

Salisbury, F. y Ross, C. 1992. *Plant physiologist*. Cuarta edición. Wadsworth, Belmont. Pág. 422.

Sánchez, M. 2002. *Efecto de las micorrizas arbusculares en el desarrollo de los cultivos agrícolas*. Resúmenes. XV Congreso Mexicano de Botánica. Querétaro. México.

- Schüssler, A. y Walker, C. 2010. The Glomeromycota. A species list with new families and new genera.  
< [http://www.lrz.de/~schuessler/amphylo/Schuessler&Walker2010\\_Glomeromycota.pdf](http://www.lrz.de/~schuessler/amphylo/Schuessler&Walker2010_Glomeromycota.pdf)  
>. (15-01-2012).
- Sieverding, E. 1991. *Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems* technical cooperation. Alemania.
- Simon, L.; Bousquet, R.; Levesquet, C. y Lalonde, M. 1993. Origin and diversification of endomycorrhizal: Fungi and coincidence with vascular land plants. *Nature*, 363: 67-69.
- Smith, F.; Jacobsen, I. y Smith S. 2000. Spatial differences in acquisition of soil, phosphate between two arbuscular mycorrhizal fungi in symbiosis with *Medicago truncatula*. *New Phytologist*, 147: 357-366.
- Slaton, M. y Smith, W. 2002. Mesophyll architecture and cell exposure to intercellular air space in alpine, desert, and forest species. *International Journal Plant Science*, 163(6): 937-948.
- Smith, S. y Read, D. 1997. *Mycorrhizal symbiosis*. Segunda edición. Academic Press. San Diego, USA.
- Srivastava, M. 2002. Plant, growth and development: hormones and environment. Academic Press. San Diego. Pág. 772.
- Stahl, D.; Willians, S. y Christensen, M. 1988. Efficacy of native vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi after severe soil disturbance. *New Phytologist*, 110: 347-354.
- Strack, D.; Fester, T.; Hause, B.; Schliemann, W. y Walter, M. 2003. Arbuscular mycorrhizal biological, chemical and molecular. *Journal of Chemical Ecology*, 29(25): 1955-1979.
- Stürmer, L. y Bellei, M. 1994. Composition and seasonal variation of spore populations of arbuscular mycorrhizal fungi in dune soils on the island of Santa Catalina, Brazil. *Canadian Journal of Botany*, 72(3): 359-363.
- Taylor, J. y Harrier, L. 2000. A comparison of nine species of arbuscular mycorrhizal fungi on the development and nutrition of micropropagated *Rubus idaeus* L. cv. Glen Prosen (red raspberry). *Plant and Soil*, 225: 53-61.
- Tena, A. 2002. Presencia de hongos micorrízicos arbusculares en plantas silvestres de suelos salinos en el estado de Colima. Trabajo de Grado. Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Colima, Tecomán, México.

Trouvelot, A.; Kough, J. y Gianinazzi-Pearson, V. 1986. Mesure du taux de mycorrhization VA d'un système racinaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. En: *Physiological and genetical aspects of mycorrhizae*. Gianinazzi-Pearson, V. y Gianinazzi, S. (eds). Inra. Paris. Págs. 101-109.

Usuga, C.; Castañeda, D.; Franco, A.; Gómez, F.; Lopera, C. 2008. Efecto de la micorrización y la fertilización en la acumulación de biomasa en plantas de banano (*Musa* AAA cv. Gran Enano) (Musaceae). *Revista Facultad Nacional de Agronomía - Medellín*, 61 (1): 4269-4278.

Valencia, R.; Pitman, N.; León-Yáñez, S. y Jørgensen, P. (Eds.) 2000. *Libro Rojo de las Plantas Endémicas del Ecuador 2000*. Herbario QCA, Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Quito. Ecuador.

Velandia, D. 2006. Evaluación y caracterización de micorrizas arbusculares asociadas a yuca (*Manihot esculenta*) en dos regiones de la amazonia colombiana. Trabajo de Grado. Facultad de Ciencias, Microbiología Agrícola y Veterinaria. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá. Colombia.

Walch-Liu, P.; Neumann, F. Bangerth y C. Engels. 2000. Rapid effects of nitrogen form on leaf morphogenesis in tobacco. *Journal of Experimental Botany*, 51(343): 227-237.

Wallace, L. 1987. Effects of clipping and soil compactation on growth, morphology and micorrhizal colonization of *Schizachyrium scoparium*, a C4 bunchgrass. *Oecologia*, 72: 423-428.

Warner, A. 1984. Colonization of organic matter by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Transactions of the British Mycological Society*, 82(2): 352-354.

Wilcox G. 1996. Tomato. En: *Nutrient deficiencies and toxicities in crop plants*. American Phytopathological Society (eds). Academic Press, USA. Págs. 137-141.

Zar, J. 1999. *Biostatistical Analysis*, Cuarta edición. Prentice Hall INC. USA.

## APÉNDICE

Tabla 1. Análisis de varianza de la altura semanal (7-13 semanas) de *Passiflora edulis* sometida a diferentes tratamientos.

<b>Fuente</b>	<b>gl</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
BLOQUES	5	1746,8	349,37	5,44	0,0001 *
TRATAM	5	6167,5	1233,50	19,21	0,0000 *
PERIODO	6	7838,2	1306,36	20,35	0,0000 *
TRATAM*PERIODO	30	842,8	28,09	0,44	0,9956 ns
Error	205	13160,0	64,19		
Total	251	29755,3			

\* : Significativo ( $p \leq 0,05$ ) y ns : No significativo ( $p > 0,05$ ).

Tabla 2. Análisis de varianza de la altura (cm) a cosecha (semana 13) de las plantas de *Passiflora edulis* sometida a diferentes tratamientos. (Datos transformados mediante  $1/X$ ).

<b>Fuente</b>	<b>Gl</b>	<b>DS</b>	<b>CS</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
BLOQUES	5	0,00083	1,665E-04	1,19	0,3444 ns
TRATAM	5	0,00331	6,622E-04	4,71	0,0036 *
Error	25	0,00351	1,404E-04		
Total	35	0,00765			

\* : Significativo ( $p \leq 0,05$ ) y ns : No significativo ( $p > 0,05$ ).

Tabla 3. Análisis de varianza del número de hojas totales semanal (7-13 semanas) de *Passiflora edulis* sometida a diferentes tratamientos.

<b>Fuente</b>	<b>gl</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
BLOQUES	5	90,19	18,0381	11,88	0,0000 *
TRATAM	5	310,14	62,0286	40,87	0,0000 *
PERIODO	6	353,43	58,9048	0,17	1,0000 *
TRATAM*PERIODO	30	7,52	0,2508	0,44	0,9956 ns
Error	205	311,14	1,5178		
Total	251	1072,43			

\* : Significativo ( $p \leq 0,05$ ) y ns : No significativo ( $p > 0,05$ ).

Tabla 4. Análisis de varianza para el número de hojas a cosecha de las plantas de *Passiflora edulis* sometida a diferentes tratamientos.

<b>Fuente</b>	<b>Gl</b>	<b>DS</b>	<b>CS</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
BLOQUES	5	11,4722	2,29444	1,52	0,2189 ns
TRATAM	5	41,8056	8,36111	5,55	0,0014 *
Error	25	0,0035	1,50778		
Total	35	90,9722			

\* : Significativo ( $p \leq 0,05$ ) y ns : No significativo ( $p > 0,05$ ).

Tabla 5. Análisis de varianza del grosor de la base del tallo (mm) semanal (7-13 semanas) de *Passiflora edulis* sometida a diferentes tratamientos.

<b>Fuente</b>	<b>gl</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
BLOQUES	5	18,718	3,7436	18,69	0,0000 *
TRATAM	5	44,595	8,9190	44,53	0,0000 *
PERIODO	6	67,796	11,2994	56,41	0,0000 *
TRATAM*PERIODO	30	1,620	0,0540	0,27	1,0000 ns
Error	205	41,061	0,2003		
Total	251	173,791			

\* : Significativo ( $p \leq 0,05$ ) y ns : No significativo ( $p > 0,05$ ).

Tabla 6. Análisis de varianza del grosor de la base del tallo (mm) a cosecha de *Passiflora edulis* sometida a diferentes tratamientos.

<b>Fuente</b>	<b>Gl</b>	<b>DS</b>	<b>CS</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
BLOQUES	5	3,6683	0,73365	2,92	0,0328 *
TRATAM	5	8,3462	1,66924	6,65	0,0005 *
Error	25	6,2799	0,25120		
Total	35	18,2944			

\* : Significativo ( $p \leq 0,05$ ).

Tabla 7. Análisis de varianza del área foliar (cm<sup>2</sup>) a cosecha de *Passiflora edulis* sometida a diferentes tratamientos.

<b>Fuente</b>	<b>gl</b>	<b>DS</b>	<b>CS</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
BLOQUES	5	2174,10	434,82	1,44	0,2449
TRATAM	5	7932,17	1586,43	5,25	0,0020**
Error	25	7551,98	302,08		
Total	35	17658,20			

\* : Significativo ( $p \leq 0,05$ ) y ns : No significativo ( $p > 0,05$ ).

Tabla 8. Análisis de varianza para la biomasa seca (g) a cosecha de *Passiflora edulis* sometida a diferentes tratamientos.

<b>Fuente</b>	<b>gl</b>	<b>DS</b>	<b>CS</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
BLOQUES	5	2,1128	0,42256	0,77	0,5788 ns
TRATAM	5	4,9397	1,66924	9,03	0,0001 *
Error	25	13,6815	0,54726		
Total	35	40,4926			

\* : Significativo ( $p \leq 0,05$ ) y ns : No significativo ( $p > 0,05$ ).

Tabla 9. Análisis de varianza del contenido de P foliar a cosecha de *Passiflora edulis* sometida a diferentes tratamientos.

<b>Fuente</b>	<b>gl</b>	<b>DS</b>	<b>CS</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
BLOQUES	5	49,952	9,9903	0,78	0,5702 ns
TRATAM	5	318,952	63,7903	5,01	0,0026 **
Error	25	318,207	12,7283		
Total	35	687,111			

\* : Significativo ( $p \leq 0,05$ ) y ns : No significativo ( $p > 0,05$ ).

Tabla 10. Análisis de varianza de la frecuencia de micorrización a cosecha de *Passiflora edulis* sometida a diferentes tratamientos.

<b>Fuente</b>	<b>gl</b>	<b>DS</b>	<b>CS</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
BLOQUES	5	3018,7	603,75	2,09	0,0999 ns
TRATAM	5	39421,7	7884,33	27,33	0,0000 *
Error	25	7212,5	288,50		
Total	35	49652,9			

\* : Significativo ( $p \leq 0,05$ ) y ns : No significativo ( $p > 0,05$ ).

Tabla 11. Análisis de varianza de la riqueza arbuscular a cosecha de *Passiflora edulis* sometida a diferentes tratamientos.

<b>Fuente</b>	<b>gl</b>	<b>DS</b>	<b>CS</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
BLOQUES	5	458,82	91,76	1,15	0,3610 ns
TRATAM	5	6607,19	1321,44	16,56	0,0000 *
Error	25	1995,41	79,82		
Total	35	9061,42			

\* : Significativo ( $p \leq 0,05$ ) y ns : No significativo ( $p > 0,05$ ).

## HOJA DE METADATOS

### Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/6

<b>Título</b>	EFEECTO DE <i>Funneliformis mosseae</i> y <i>Diversispora spurca</i> SOBRE EL CRECIMIENTO Y DESARROLLO DE PLANTAS DE PARCHITA <i>Passiflora edulis</i> Sims. BAJO CONDICIONES DE VIVERO
<b>Subtítulo</b>	

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
BEATRIZ BERGAMO	<b>CVLAC</b>	<b>17.957.330</b>
	<b>e-mail</b>	<b>beabergamo@hotmail.com</b>
	<b>e-mail</b>	
	<b>CVLAC</b>	
	<b>e-mail</b>	
	<b>e-mail</b>	
	<b>CVLAC</b>	
	<b>e-mail</b>	
	<b>e-mail</b>	

**Autor(es)**

**Palabras o frases claves:**

Hongos formadores de micorrizas arbusculares (HMA), *Passiflora edulis* Sims, inóculo, simbiosis, crecimiento y desarrollo.

## Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/6

### Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
CIENCIAS	BIOLOGIA

### Resumen (abstract):

Los hongos formadores de micorrizas arbusculares (HMA) están siendo aplicados como biofertilizantes para el aumento de la producción de rubros agrícolas de gran demanda. La parchita (*Passiflora edulis* Sims.), es un cultivo muy apreciado a nivel mundial debido a la gran importancia como producto fresco o procesado; sin embargo, no se han reportado estudios de su interacción con estos simbioses bajo las condiciones edafoclimáticas del estado Sucre. Por tal motivo, se evaluó el efecto de un inóculo nativo y de un inóculo comercial formado por combinación de dos especies de HMA (52% *Funneliformis mosseae* y 48% *Diversispora spurca*), además, de la aplicación de 25 mg kg<sup>-1</sup> de fósforo inorgánico y la combinación de éste con el inóculo nativo y con los inóculos comerciales sobre el crecimiento y desarrollo de la parchita. Algunas plantas se mantuvieron durante el experimento solo con suelo de vivero esterilizado (control). A partir de la séptima semana después de emergencia, se midió semanalmente hasta el momento de la cosecha, la altura, número de hojas y grosor de la base del tallo. Adicionalmente, al final del experimento (13<sup>ava</sup> semana), se determinó el área, considerando el ancho y largo foliar, y la biomasa seca, colocando el vástago en la estufa a 80°C por 72 h. También se cuantificó el fósforo (P) foliar mediante ICP-OES, y la frecuencia de micorrización (%F) y riqueza arbuscular (%A) por microscopía óptica de muestras de raíces decoloradas y teñidas. Las esporas presentes en suelo con inóculo nativo fueron aisladas e identificadas taxonómicamente observándolas al microscopio. La altura, número de hojas y grosor del tallo de *P. edulis* fueron variables durante todo el periodo de experimentación, mostrando mayores valores a la 13<sup>ava</sup> semana. Estadísticamente, estos parámetros se diferenciaron significativamente entre los tratamientos durante el periodo de observación semanal y al final del ensayo, con máximos generalmente en los tratamientos micorrizados (tanto con el inóculo nativo como el comercial, fosforados o no) en comparación con las plantas cultivadas con P o control. El área, biomasa seca y P foliar tuvieron un comportamiento parecido a las variables anteriores. El %F fue significativamente más alto en todos los tratamientos micorrizados; mientras que el %A lo fue en los micorrizados combinados con P. Estos resultados permiten sostener que la parchita es una planta muy dependiente de los HMA (nativos o comerciales), ya que requiere de esta asociación simbiótica para alcanzar mayor crecimiento y desarrollo, bajo las condiciones edafoclimáticas del estado Sucre.

### Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/6

**Contribuidores:**

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
ISABEL MIMBELA DE LOROÑO	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input checked="" type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	E: 15.575.530
	e-mail	isamimbela@hotmail.com
	e-mail	
	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	
	<b>e-mail</b>	

Fecha de discusión y aprobación:

Año      Mes      Día

2011	12	08
------	----	----

Lenguaje: **SPA**

## Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/6

### Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
Tesis_BB	Application/Word

### Alcance:

Espacial :      Nacional                      (Opcional)

Temporal:      Temporal                      (Opcional)

### Título o Grado asociado con el trabajo:

Licenciatura en Biología

### Nivel Asociado con el Trabajo:

Licenciatura

### Área de Estudio:

Biología.

### Institución(es) que garantiza(n) el Título o grado:

Universidad de Oriente

# Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 5/6



UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
CONSEJO UNIVERSITARIO  
RECTORADO

CUN°0975

Cumaná, 04 AGO 2009

Ciudadano  
**Prof. JESÚS MARTÍNEZ YÉPEZ**  
Vicerrector Académico  
Universidad de Oriente  
Su Despacho

Estimado Profesor Martínez:

Cumplo en notificarle que el Consejo Universitario, en Reunión Ordinaria celebrada en Centro de Convenciones de Cantaura, los días 28 y 29 de julio de 2009, conoció el punto de agenda **"SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN PARA PUBLICAR TODA LA PRODUCCIÓN INTELECTUAL DE LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UDO, SEGÚN VRAC N° 696/2009"**.

Leído el oficio SIBI – 139/2009 de fecha 09-07-2009, suscrita por el Dr. Abul K. Bashirullah, Director de Bibliotecas, este Cuerpo Colegiado decidió, por unanimidad, autorizar la publicación de toda la producción intelectual de la Universidad de Oriente en el Repositorio en cuestión.

UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
SISTEMA DE BIBLIOTECA  
RECIBIDO POR *Mazley*  
FECHA *5/8/09* HORA *5:30*

Comunicación que hago a usted a los fines consiguientes.

Cordialmente,

*JUAN A. BOLANOS CUNTEL*  
Secretario



C.C: Rectora, Vicerrectora Administrativa, Decanos de los Núcleos, Coordinador General de Administración, Director de Personal, Dirección de Finanzas, Dirección de Presupuesto, Contraloría Interna, Consultoría Jurídica, Director de Bibliotecas, Dirección de Publicaciones, Dirección de Computación, Coordinación de Teleinformática, Coordinación General de Postgrado.

JABC/YGC/manuja

## Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 6/6

**Artículo 41 del REGLAMENTO DE TRABAJO DE PREGRADO (vigente a partir del II Semestre 2009, según comunicación CU-034-2009):** “Los trabajos de grados son de la exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente, y solo podrá ser utilizados para otros fines con el consentimiento del Concejo de Núcleo respectivo, quien deberá participarlo previamente al Concejo Universitario, para su autorización”.



**Beatriz Carolina Bergamo Rondón**

**Autor**



**Isabel Mimbela de Loroño**

**Tutor**