



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

EFFECTO DE LA INOCULACIÓN MICORRÍZICA Y RESIDUOS DE MICROALGAS  
(*Chlorella vulgaris* Beyerinck) EN EL CRECIMIENTO Y DESARROLLO DE *Manihot*  
*esculenta* Cranz  
(Modalidad: Tesis de Grado)

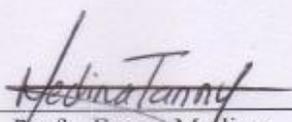
BEDA MARÍA ACUÑA ACUÑA

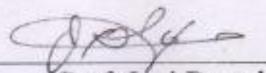
TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA  
OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO EN BIOLOGÍA

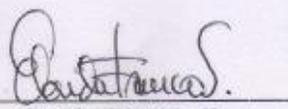
CUMANÁ, Junio 2022

EFFECTO DE LA INOCULACIÓN MICORRÍZICA Y RESIDUOS DE MICROALGAS  
(*Chlorella vulgaris* Beyerinck) EN EL CRECIMIENTO Y DESARROLLO DE *Manihot*  
*esculenta* Cranz

APROBADO POR:

  
Prof. Fanny Medina  
Asesora

  
Prof. José Bernal  
Jurado

  
Prof. Elérida Franco  
Jurado

# ÍNDICE

DEDICATORIA .....	I
AGRADECIMIENTOS .....	II
LISTA DE TABLAS .....	III
LISTA DE FIGURAS.....	IV
RESUMEN .....	V
INTRODUCCIÓN .....	1
METODOLOGÍA .....	8
Ubicación del ensayo .....	8
Material de siembra .....	8
Manipulación y análisis del suelo.....	8
Inóculo micorrízico.....	8
Siembra e inoculación.....	9
Diseño experimental .....	9
Estudios en el vivero.....	10
Altura de la planta.....	10
Grosor del cuello del tallo .....	10
Número de hojas .....	10
Longitud del sistema radical.....	10
Estudios en el laboratorio .....	10
Biomasa seca de las plantas.....	11
Porcentaje de infección micorrízica .....	11
Aislamiento y cuantificación de esporas de hongos formadores de micorrizas arbusculares .....	12
Análisis estadísticos.....	13
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	14
Análisis fisicoquímico del suelo.....	14
Evaluación de la parte aérea de las plantas.....	18
Longitud del sistema radical.....	27
Biomasa seca de las plantas.....	30
Porcentaje de infección micorrízica.....	32

Cuantificación de esporas de hongos formadores de micorrizas arbusculares.....	37
CONCLUSIONES .....	41
RECOMENDACIONES.....	42
BIBLIOGRAFÍA .....	43
APÉNDICES .....	57
ANEXOS .....	61
HOJA DE METADATOS .....	62

## **DEDICATORIA**

De manera especial este trabajo va dedicado a mis padres Cruz Zaidalix y Antonio José Acuña, por ser mi fortaleza y mi guía siempre.

A mis hermanos Rosaida Saray, Ruht Alexandra, Ezequiel Simón y Santiago Antonio Acuña, quienes son mi apoyo constante.

A mis bellas sobrinas Ana Pula y Sarah Valentina Acuña, que llegaron para proporcionarme luz, fuerza y aumentar el motivo de mi vida.

A mis abuelos, tías, tíos, primos y a toda mi familia en general, que con su amor ha hecho de mí quien soy, con mis principios, valores, sueños y destrezas.

A Nancy Hernández, por ser amiga, hermana y madre, en todo momento que estuvo y estará presente, que con su carácter me hizo ver parte de lo que es la vida.

## AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi más profundo agradecimiento, a todos aquellos quienes de alguna manera muy especial me ayudaron a concluir con éxito mi transitar por los caminos formativos de la carrera que escogí, principalmente:

Al profesor Miguel Guevara por ser promotor de la idea principal que se desarrolló en este trabajo.

A las profesoras Isabel Mimbela y Fanny Medida por el apoyo y la confianza depositada en mi persona para la realización del presente trabajo.

La universidad de Oriente (UDO), casa de estudios que me albergó durante estos años de mi vida, específicamente al Departamento de Biología.

A los profesores que fueron parte de mi formación académica, por todos los conocimientos brindados, las orientaciones, consejos y por tenerme paciencia.

Al Laboratorio de Microbiología de Suelos, del Departamento de Biología, de la Escuela de Ciencias de la Universidad de Oriente, por haberme acogido en este momento tan decisivo de mi vida.

Al Laboratorio de Cultivo de Microalgas del Instituto Oceanográfico de Venezuela (IOV) y a sus integrantes, dentro de los cuales puedo mencionar a la profesora Dialys Bastardo, Elvira Hernández, Roraisy Cortez y Rafael Pinto, por su ayuda y patrocinio.

Al Dr. Iván Maza, jefe de Laboratorio de Suelos, Agua, Planta y Ecomateriales de la Escuela de Ingeniería Agronómica de la Universidad de Oriente, núcleo Monagas por su colaboración brindada en la determinación de las características fisicoquímicas del suelo.

A todos los profesores de la UDO que me han guiado en este proceso y despejado mis dudas a lo largo de este estudio, en especial a la profesora Fanny Medina, Isabel Mimbela, Olga Gómez, Dialys Bastardo, Rosana Valerio, Víctor Franco, José Veliz y Baumar Marin. Gracias por sus orientaciones y conocimientos compartidos.

A mi familia, por toda su ayuda brindada a lo largo de mi carrera, por su motivación y aliento. Mis tíos de corazón Carlos, Enrique y Luis Acuña; de igual modo al Sr. Fernando Velásquez por tolerarme, ser pacientes y prestarme su valioso tiempo en el traslado de los materiales e implementos usados para esta investigación.

A las maravillosas personas de la comunidad de San Fernando por brindarme su apoyo con los materiales de siembra y conocimientos, en especial a mi primo adorado Omar Pérez y a mi cuñado César Antonio Acuña.

A mis amigos y compañeros de la universidad por todo el cariño y la amistad incondicional que me brindaron y sobretodo el apoyo ofrecido al momento de realizar este trabajo. Han hecho de mi paso por esta carrera, una experiencia inolvidable.

Y por sobre todo agradezco a mis padres por traerme a la vida, a el Universo, Dios, Buda... por esta oportunidad de vivir, acompañarme en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo este periodo de mi vida haciéndome ver que puedo más de lo que creía poder.

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Análisis fisicoquímico de un suelo de vivero proveniente de una plantación ubicada en la población de San Fernando, comunidad San Fernando, municipio Montes, estado Sucre, Venezuela. ....	14
--	----

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Altura de las plantas de *Manihot esculenta*, cultivadas en suelos micorrízados durante los 70 días de aplicación de las distintas concentraciones de residuos del agua de cultivo de *Chlorella vulgaris* (0, 25, 50 y 100%)..... 19
- Figura 2. Grosor del cuello del tallo de las plantas de *Manihot esculenta*, cultivadas en suelos micorrízados durante los 70 días de aplicación de las distintas concentraciones de residuos del agua de cultivo de *Chlorella vulgaris* (0, 25, 50 y 100%)..... 23
- Figura 3. Número de hojas fotosintéticas de las plantas de *Manihot esculenta*, cultivadas en suelos micorrízados durante los 70 días de aplicación de las distintas concentraciones de residuos de agua del cultivo de *Chlorella vulgaris* (0, 25, 50 y 100%)..... 26
- Figura 4. Longitud del sistema radical de las plantas de *Manihot esculenta*, cultivadas en suelos micorrízados y fertilizados con distintas concentraciones del residuo de agua del cultivo de *Chlorella vulgaris* (0, 25, 50 y 100%)..... 28
- Figura 5. Biomasa seca promedio de las plantas de *Manihot esculenta*, cultivadas en suelos micorrízados y fertilizados con distintas concentraciones del residuo del agua de cultivo de *Chlorella vulgaris* (0, 25, 50 y 100%)..... 31
- Figura 6. Frecuencia de micorrización (%F) del sistema radical de las plantas de *Manihot esculenta*, cultivadas en suelos micorrízados y fertilizados con distintas concentraciones de residuos del agua de cultivo de *Chlorella vulgaris* (0, 25, 50 y 100%)..... 33
- Figura 7. Riqueza arbuscular total (A%) del sistema radical de las plantas de *Manihot esculenta*, cultivadas en suelos micorrízados y fertilizados con distintas concentraciones de residuos del agua de cultivo de *Chlorella vulgaris* (0, 25, 50 y 100%)..... 35
- Figura 8. Número de esporas de HMA nativos x 100 g de suelo sometido a riego constante con distintas concentraciones de residuos del agua de cultivo de *Chlorella vulgaris* (0, 25, 50 y 100%), asociado a la rizosfera de las plantas de *Manihot esculenta*..... 38

## RESUMEN

Se evaluó el efecto de la aplicación de distintas concentraciones de residuos del agua de cultivo de *Chlorella vulgaris* (0, 25, 50 y 100%) sobre el crecimiento y desarrollo de plantas de yuca (*Manihot esculenta*) cultivadas en suelos inoculados con micorrizas nativas y mantenidas bajo condiciones de vivero. Se aplicó semanalmente los tratamientos correspondientes durante 80 días posteriores a la emergencia de las plantas. Se realizaron registros quincenales de los parámetros de crecimiento y desarrollo de la parte vegetativa (altura, grosor del cuello del tallo y número de hojas fotosintéticas) y al momento de la cosecha de las plantas (70 días de aplicación de los tratamientos) se midió la longitud del sistema radical y se determinó la biomasa seca, porcentaje de infección micorrízica (%F), riqueza arbuscular (%A) y número de esporas de HMA en 100 g de suelo. Las pruebas de Kruskal-Wallis aplicadas demuestran que en la altura promedio de las plantas no existen diferencias estadísticamente significativas en los días 0 y 15; pero sí hay diferencias significativas en los días 30, 45, 60 y 70 de experimentación, siendo el tratamiento control (0%) el que registra los mayores valores en comparación con las plantas sometidas a las distintas concentraciones de residuos (25%, 50% y 100%). El número de hojas fotosintéticas reporta diferencias significativas solo a los 15 días de aplicación del tratamiento, observándose que la aplicación de residuos del agua de cultivo de *C. vulgaris* al 100% reduce significativamente el número de hojas por planta. El resto de los parámetros registrados, incluyendo el grosor del cuello del tallo, longitud del sistema radical, biomasa seca, %F, %A y el número de esporas por 100 g de suelo muestran diferencias estadísticamente no significativas; aunque se evidenciaron mayores valores en las plantas control que en las que se le aplicó los residuos (25, 50 y 100%). Estos resultados sugieren que los residuos del agua de cultivo *Chlorella vulgaris*, no contribuyen al desarrollo del cultivo de yuca en suelos micorrizados, por lo que no pueden ser recomendados para su uso como biofertilizante bajo las condiciones establecidas en esta investigación.

**Palabras clave:** Micorrizas nativas, nutrientes, yuca, agua de cultivo, biofertilizante.

## INTRODUCCIÓN

La yuca (*Manihot esculenta* Crantz), originaria de América del Sur (Olsen y Schaal, 2001), es una planta perenne leñosa, perteneciente a la familia Euphorbiaceae (Mejía, 2002) que se multiplica mejor en forma vegetativa. Su cultivo se extiende por África y América Latina, como parte fundamental de la alimentación de más de mil millones de personas (FAO/FIDA, 2000) y fuente importante de carbohidratos, debido a su alta capacidad de almacenamiento de almidones (Ceballos y De la Cruz, 2002), por lo que necesita absorber una gran cantidad de nutrientes, provocando el agotamiento de los suelos donde se cultiva (Arismendi, 2001).

La planta de yuca crece en una variada gama de condiciones tropicales y en suelos fértiles principalmente, sin embargo su ventaja comparativa con otros cultivos más rentables es su capacidad para crecer en suelos ácidos, de escasa fertilidad, con precipitaciones esporádicas o largos periodos de sequía, pero no tolera encharcamientos, ni condiciones salinas del suelo (Aristizábal *et al.*, 2007). A pesar de tratarse de un cultivo de propagación vegetativa, en la yuca se observa gran variación entre plantas de un mismo clon sembradas en un solo lote y cosechadas en un tiempo dado, en cuanto a su rendimiento en el campo y calidad (Wheatley, 1991). Las fertilizaciones en suelos fértiles podrían provocar un crecimiento excesivo de la parte aérea de la planta y perjudicar la calidad de las raíces (Balagopalan *et al.*, 1998). Otras variables como la alta densidad de siembra y el estrés hídrico conllevan a un menor contenido de almidón (Balagopalan *et al.*, 1998). El efecto del estrés sobre la calidad que se observa con frecuencia es el fenómeno llamado “vidriosidad”; en este caso la raíz fresca se ve aguada y con poco almidón, y al cocinarla se torna dura y vidriosa o traslúcida (Aristizábal *et al.*, 2007).

La yuca es uno de los productos agrícolas más importantes para la seguridad alimentaria de la mayoría de los países en vías de desarrollo (DANE, 2004; Vila, 2012). En el 2016 a nivel mundial, se registró un área cultivada de 23,5 millones de hectáreas (FAO, 2016), de las cuales la mitad corresponde a los países en vías de desarrollo, donde por la facilidad del cultivo y el gran contenido de energía de la yuca se ha convertido en

un valioso producto comercial para millones de agricultores (João *et al.*, 2016).

En Venezuela, la explotación de *Manihot esculenta* se ha aumentado significativamente en las últimas décadas, debido a que sus raíces son ricas en hidratos de carbono, mientras que sus hojas tiernas contienen hasta un 25% de proteínas, además de hierro, calcio y vitaminas A y C. Pueden utilizarse como alimento para animales, y el ganado criado con yuca tiene una buena resistencia a las enfermedades y bajas tasas de mortalidad. Sin embargo, una de las razones que impulsan la demanda de yuca es el elevado nivel actual de los precios de los cereales, por lo que la convierte en una alternativa atractiva para el trigo y el maíz (Aguilar *et al.*, 2016).

Si bien es un cultivo rústico, los altos rendimientos del cultivo de yuca requieren de la aplicación de fertilizantes minerales o abonos orgánicos. Dosis óptimas de fertilización permiten alcanzar entre 40 y 60 t ha<sup>-1</sup> de raíces comerciales (Howeler, 2014). Sin embargo, el uso excesivo de fertilizantes edáficos causa graves daños al medio ambiente e incrementa los costos de producción en un cultivo de subsistencia como la yuca. Una de las alternativas promisorias para la disminución del uso de los fertilizantes de tipo mineral lo constituyen los biofertilizantes (Blanco y Salas, 1997; Bizzozero, 2006; Guerra, 2008; Barrera *et al.*, 2011; Grageda-Cabrera *et al.*, 2012).

La capacidad de la yuca para crecer en suelos relativamente pobres está relacionada con la habilidad de la planta para formar micorrizas vesículo-arbusculares (MA) que movilizan principalmente el fósforo, el cual es el principal elemento limitante del cultivo en muchas áreas productoras de América Latina (Arismendi, 2001).

En 1885, Frank propuso el término micorriza para describir un fenómeno que se observó en las raíces de ciertos árboles de los bosques templados de Norteamérica. Estos órganos eran diferentes morfológicamente de otras raíces cuando se encontraban asociadas a hongos del suelo; de ahí proviene su nombre latino que significa raíz fungosa (Azcón-Bieto y Talón, 2013). Esta asociación cumple una función muy importante en la explotación eficaz de los nutrientes inorgánicos del suelo principalmente fósforo; aunque puede movilizar nitrógeno, potasio, calcio, azufre, hierro, manganeso, cobre y zinc (Azcón y Barea, 1980; Sieverding, 1991; Liasu y Ogundola, 2006; Yeasmin *et al.*, 2007); y en la protección de las raíces contra la

presencia de metales pesados en concentraciones tóxicas (Rabie, 2005; Biró y Trakács, 2006; Liasu y Ogundola, 2006) y el ataque de hongos parasíticos y nematodos (García-Garrido y Ocampo, 1989; Azcón-Aguilar y Barea, 1996; Barea *et al.*, 1998; Barrer, 2009). Por ello, las micorrizas son fundamentales para la supervivencia de muchos taxones de plantas en diversos ecosistemas, incluyendo muchas especies de cultivo como algodón, berenjena, cacao, frijol, mora, naranja, yuca, entre otras (Carretero, 2002; Rivera-Cruz *et al.*, 2010; Cuadros *et al.*, 2011; Camarena-Gutiérrez, 2012; Pérez *et al.*, 2015; Valencia y Zúñiga, 2015).

La simbiosis micorrízica arbuscular, formada por los hongos pertenecientes al phylum Glomeromycota, es la más antigua de las asociaciones mutualistas establecidas en la rizosfera. Los registros fósiles más antiguos indican que esta asociación hongo-planta tiene unos 400 millones de años (Bago *et al.*, 1998; Honrubia, 2009), lo que ha llevado a considerar la compleja coevolución entre las plantas y sus hongos asociados, que se manifiesta en su amplia distribución y en la diversidad de mecanismos morfológicos, fisiológicos y ecológicos implicados (Simon *et al.*, 1993). La simbiosis es extraordinariamente exitosa en la naturaleza, pues se puede encontrar en el 83% de plantas dicotiledóneas, 79% de monocotiledóneas y en todas las gimnospermas (Wilcox, 1996).

El crecimiento asimbiótico de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) se produce hasta que entra en contacto con la raíz del hospedero, formando una estructura llamada apresorio por donde penetrarán las hifas a las células corticales de la raíz, para formar los arbusculos e incrementar el área de contacto entre la planta y el hongo; se inician una serie de cambios fisiológicos y bioquímicos, esto soporta la hipótesis de que el hongo emite señales que la planta reconoce y que evitan el inicio de su reacción de defensa (Barrer, 2009). La planta también libera compuestos de naturaleza volátil o difusible (exudados) que estimulan el crecimiento de la hifa en diferentes puntos de control mientras se da la colonización fúngica (Barrer, 2009).

Las incesantes investigaciones y experiencias prácticas llevadas a cabo las últimas décadas, han abierto grandes posibilidades de aplicación de los HMA, entre las cuales destacan la bioremediación y reforestación de suelos contaminados con metales

pesados e hidrocarburos, recuperación de formaciones vegetales nativas y del estrato herbáceo afectado por faenas mineras e industriales, regeneración de cubiertas vegetales y reforestación de espacios ambientales desfavorables que presenten estrés hídrico y salino, valores extremos de pH, exceso de viento y altas pendientes (Stahl *et al.*, 1988; Dannowski y Werner, 1997; Bago, 2000; Rabie, 2005; Rabie y Almadini, 2005; Rillig y Mummey, 2006; Taylor *et al.*, 2008). Sin embargo, los investigadores se han enfocado en el estudio de los HMA, como biofertilizantes de tierras agrícolas (Blanco y Salas, 1997; Cuenca *et al.*, 2004; Faheed y Abd-El Fattah, 2008).

El incremento exponencial de la demanda mundial de alimentos y la necesidad de garantizar la sustentabilidad de los sistemas agrícolas, permitiendo conservar por el mayor tiempo posible el uso y manejo de los recursos, ha obligado a la agricultura moderna, a implementar y desarrollar sistemas de biofertilización, que emplean directamente los microorganismos u organismos asociados o no a la rizosfera o los productos metabólicos de éstos. Los microorganismos utilizados en los biofertilizantes son clasificados dentro de dos grupos: el primer grupo incluye a los que tienen la capacidad de sintetizar sustancias que promueven el crecimiento de la planta, fijando nitrógeno atmosférico, solubilizando hierro y fósforo inorgánico; y mejoran la tolerancia de la planta hospedera al estrés por sequía, salinidad, metales tóxicos y exceso de pesticidas. El segundo grupo incluye a los que disminuyen o previenen los efectos del deterioro causado por los patógenos (Bashan y Holguin, 1998; Lucy *et al.*, 2004). Puede haber microorganismos que pertenecen al primer grupo como las bacterias nitrificantes y las microalgas, o que pueden estar en los dos grupos, como los HMA, ya que además de promover el crecimiento de la planta, inhiben los efectos de los patógenos (Kloepper *et al.*, 1980).

Las microalgas son microorganismos fotosintéticos procariotas y eucariotas, capaces de utilizar nutrientes como el dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), agua y energía solar para producir biomasa y se consideran interesantes en este contexto ya que poseen un elevado contenido en aceites (hasta un 60% en masa) (Rhodes, 2009; Mulumba y Farag, 2012). Además, pueden crecer extremadamente rápido, entre 10 y 200 veces más rápido que los cultivos terrestres como la soya y colza (Chisti, 2007); viven en condiciones no

muy favorables (Mata *et al.*, 2010) y se localizan en hábitats diversos como agua de mar, dulce, salobre, residuales o en el suelo, bajo un amplio intervalo de temperaturas, pH y disponibilidad de nutrientes, debido a su estructura unicelular o multicelular simple (Hernández-Pérez y Labbé, 2014). Tienen una alta productividad, pues con pequeñas áreas de cultivo se pudiera abastecer grandes demandas energéticas (Rhodes, 2009).

El crecimiento de un cultivo de microalgas se expresa como el incremento de biomasa ya sea en forma de número de células, biomasa seca (total u orgánica), cantidad de proteína o de pigmentos (medidos directamente o en unidades arbitrarias de fluorescencia), y volumen de células o carbono celular total (calculado para un periodo de tiempo o una fase de crecimiento específica). En general, las condiciones ambientales cambian con la edad del cultivo, por lo cual cambia también la velocidad de crecimiento poblacional, esto permite reconocer diferentes fases de crecimiento, que sirven para describir la forma en la cual cambia la concentración celular o de biomasa. Estas fases son: fase logarítmica o de adaptación (1), de aceleramiento (2), exponencial (3), de desaceleración (4), estacionaria (5) y de muerte (6). Normalmente se cultiva o se recoge la cosecha de microalgas entre las fases 4 y 5, donde la concentración celular alcanza su máxima expresión, a pesar de que la división celular disminuye; las condiciones del cultivo se van haciendo limitantes debido al alto volumen de células y la natalidad tiende a igualarse a la mortalidad (Arredondo-Vega y Voltolina, 2007); indicando que el medio de cultivo aún posee grandes cantidades de nutrientes. Existen una gran variedad de medios de cultivos, la mayoría son modificaciones de fórmulas establecidas con el fin de proporcionarle a las especies a cultivar las condiciones adecuadas para su desarrollo y reproducción (Arredondo-Vega y Voltolina, 2007).

Actualmente el mercado de las microalgas se basa en la acuicultura, en la producción de biomasa nutritiva para la alimentación y en la producción de compuestos de alto valor agregado, como antioxidantes (Spolaore *et al.*, 2006). Sin embargo, en las últimas décadas se registró un aumento de las investigaciones dirigidas al cultivo masivo de microalgas, especialmente de *Chlorella vulgaris* Beyerinck como fertilizantes de tierras agrícolas, debido a que representan una fuente de biomasa que puede ser empleada en la producción de biocombustibles y biofertilizantes (Miao y Wu, 2006;

Demirbas, 2009; Brennan y Owende, 2010; Abdel-Raouf *et al.*, 2012), pero el agua residual rica en nutrientes de esos cultivos es desechada. Las algas verdes contienen un alto porcentaje de macronutrientes, una cantidad considerable de micronutrientes y aminoácidos por lo que pueden ser usadas en la agricultura, pues estimulan el crecimiento de las raíces y producen buenos rendimientos, éstas se pueden producir convenientemente en aguas residuales y salobres y pueden parcialmente sustituir a los fertilizantes químicos para evitar la contaminación ambiental (Kuwada *et al.*, 2006).

La producción comercial de microalgas tiene alrededor de 50 años, siendo los principales géneros de interés comercial: *Chlorella*, *Spirulina*, *Dunaliella* y *Haematococcus*. La especie *Chlorella vulgaris* Beyerinck es la más abundante y disponible alga verde unicelular de agua dulce, cuyas células se presentan aisladas aunque eventualmente pueden formar agregados; tiene forma esférica y un tamaño que oscila entre 2 y 6  $\mu\text{m}$ . Esta microalga es una de las especies más abundantes y frecuentes en la flora de las aguas residuales y lagunas de oxidación; crece rápidamente a elevadas temperaturas y tolera hasta 37°C en condiciones de cultivo a cielo abierto (Hernández-Pérez y Labbé, 2014).

Faheed y Abd-El Fattah (2008) emplearon *Chlorella vulgaris* como biofertilizante de lechuga, analizando el efecto de la fertilización sobre los parámetros de crecimiento y aspectos metabólicos de las plantas, observando que los cultivos de microalgas incrementan significativamente el crecimiento vegetativo, la biomasa fresca y seca, así como el contenido de pigmentos, sin embargo, también reportan una disminución significativa en carbohidratos solubles, proteínas solubles y aminoácidos libres totales en comparación con el tratamiento control (medio de cultivo esterilizado).

Kuwada *et al.* (2006) estudiaron el efecto de los extractos de algas rojas y verdes en el crecimiento hifal de hongos micorrízicos arbusculares, y en el crecimiento de plantas de lechosa y parchita. Los resultados mostraron que los extractos de las algas estimulan significativamente el crecimiento de las hifas, aumentando notablemente el porcentaje de colonización de los HMA en raíces de lechosa y parchita, además incrementan la biomasa de éstas en comparación con el control (0% del extracto), por lo que los extractos de algas rojas y verdes se pueden usar como materia prima para

bioestimulantes, especialmente de HMA.

Calderón *et al.* (2000) evaluaron el efecto de la inoculación de *Glomus manihotis* sobre el crecimiento y desarrollo durante la fase de aclimatación de plantas de yuca producidas *in vitro*, demostrando que la micorrización incrementa significativamente el desarrollo de las plantas y promueve el alargamiento del sistema radical en comparación con las no micorrizadas, lo cual está asociado con mejoras en la nutrición del hospedero.

En Venezuela, por su biodiversidad (en plantas y microorganismos), condiciones edafoclimáticas y su ubicación geográfica, se ve beneficiado el establecimiento de plantas de interés agrícola, como la yuca, que tiene gran demanda en todas las regiones de la nación. Sin embargo, con la premisa de alcanzar una agricultura sustentable que resulte práctica y rentable para cada unidad agrícola y que también permita mejorar la fertilidad del suelo, en el presente trabajo se evaluó el efecto de las micorrizas arbusculares nativas del estado Sucre y los residuos del agua de cultivo de *Chlorella vulgaris* en el crecimiento y desarrollo de plantas de yuca, para reducir los costos de producción del rubro y disminuir las concentraciones de fertilizantes químicos que están contaminando los suelos donde se establece el cultivo.

## **METODOLOGÍA**

### **Ubicación del ensayo**

El bioensayo se realizó en un vivero particular en la comunidad de San Fernando, municipio Montes, estado Sucre, en las coordenadas 10°18'19,5"N y 63°56'11,2"O.

### **Material de siembra**

Para esta investigación se seleccionaron estacas de *Manihot esculenta* variedad Valenciana de aproximadamente 8 cm de largo por un cm de ancho aparentemente sanos, es decir, sin daños mecánicos y libres de enfermedades, provenientes de una plantación ubicada en la población de San Fernando, comunidad El Caro-Caño, municipio Montes, estado Sucre.

### **Manipulación y análisis del suelo**

Se usó suelo de vivero proveniente de la población de San Fernando, comunidad San Fernando, municipio Montes, estado Sucre; el cual se esterilizó en autoclave a una presión de 15 psi por 15 min. La determinación de las características fisicoquímicas del suelo fue evaluada por el Laboratorio de Suelos, Agua, Planta y Ecomateriales de la Escuela de Ingeniería Agronómica de la Universidad de Oriente, núcleo Monagas, donde se evidencia: textura, pH, conductividad eléctrica, capacidad de intercambio catiónico, materia orgánica y el contenido de P, K, Na, Ca y Mg asimilable.

### **Inóculo micorrízico**

El inóculo nativo de micorrizas, formado por micelio y esporas asociadas a la rizosfera proviene de una plantación de yuca, ubicada en la población de San Fernando, comunidad El Caro-Caño, municipio Montes, estado Sucre.

Para evaluar la capacidad infectiva de los hongos nativos, se aislaron las esporas de los HMA de aproximadamente 5 kg de suelo, utilizando la técnica del tamizado húmedo y decantado (Sieverding, 1991). El material fue recogido en un tamiz de 35  $\mu$ m,

se secó al aire durante tres días y es lo que fue considerado como el inóculo de hongos nativos. Para la inoculación se usó 50 g del inóculo por cada unidad experimental.

### **Siembra e inoculación**

Para la siembra de las estacas de yuca se utilizaron envases plásticos de un kg de capacidad, con 900 g del suelo esterilizado, al cual se le aplicó 50 g del inóculo micorrízico nativo. El método de inoculación de los HMA fue de aplicación directa y homogénea al suelo.

Se realizó la siembra directa de un esqueje de yuca por envase, los cuales se mantuvieron bajo condiciones de vivero hasta la emergencia de las plantas, a temperatura ambiente, con fotoperiodo de 12:12 horas y riego semanal con 100 mL de agua filtrada. Los tratamientos se aplicaron semanalmente después de los 10 días de emergencia de las plantas, durante 70 días para un total de 80 días de ensayo. El tratamiento control fue regado con 50 mL de agua filtrada, mientras que a las plantas sometidas a las diferentes concentraciones de residuos del agua de cultivo de microalgas (25, 50 y 100%) se les aplicó 50 mL de acuerdo al tratamiento. El suelo fue mantenido a capacidad de campo hasta el final del experimento.

Los residuos del agua de cultivo de *Chlorella vulgaris* fueron suministrados por el Laboratorio de Cultivo de Microalgas del Instituto Oceanográfico de Venezuela (IOV) y las diluciones (25 y 50%) fueron realizadas con agua filtrada.

### **Diseño experimental**

Se evaluó el efecto combinado de HMA nativos y el riego constante con diferentes concentraciones de residuos del agua de cultivo de *Chlorella vulgaris* (0, 25, 50 y 100%) sobre el crecimiento y desarrollo de *Manihot esculenta*, utilizando tres bloques al azar, con tres réplicas para cada tratamiento, para un total de treinta y seis (36) unidades experimentales. Cada unidad experimental representa por un envase plástico de un kg de capacidad que contenía una estaca de yuca.

## **Estudios en el vivero**

Para cada una de las plantas de cada tratamiento se midió, quincenalmente, durante 70 días los parámetros de crecimiento y desarrollo de la parte vegetativa de las plantas (altura, grosor del cuello del tallo y número de hojas fotosintéticas). La longitud del sistema radical se evaluó una vez cosechadas las plantas.

### Altura de la planta

La altura de cada una de las plantas representa la medida obtenida desde la base del tallo hasta el meristema apical, localizado en la yema terminal, para obtener esta medida se empleó una cinta métrica.

### Grosor del cuello del tallo

El grosor del cuello del tallo (diámetro de la base del tallo) de cada una de las plantas se obtuvo con ayuda de un vernier digital Mitutoyo, modelo CD-6''.

### Número de hojas

Se registró el número de hojas fotosintéticas totales observadas en cada una de las plantas sometidas a los tratamientos establecidos en este estudio.

### Longitud del sistema radical

La longitud del sistema radical de cada una de las plantas representa la medida obtenida desde la base del tallo hasta la raíz de mayor longitud, para obtener esta medida se empleó una cinta métrica.

## **Estudios en el laboratorio**

Una vez finalizado el experimento, a los 70 días de aplicación de los tratamientos (80 días después de la emergencia de las plantas), se cosecharon las plantas sometidas a cada una de las concentraciones de residuos del agua de cultivo de *Chrorella vulgaris*, a las cuales se les determinó la biomasa seca constante de la parte aérea y el porcentaje de

infección micorrízica del sistema radical. Adicionalmente, el número de esporas de HMA presentes en 100 g de suelo se evaluó en este bioensayo.

#### Biomasa seca de las plantas

La biomasa seca constante se determinó mediante el método de Campos (1994), el cual consistió en separar la parte aérea de las plantas y colocarlas en bolsas de papel previamente rotuladas de acuerdo a los tratamientos. Luego fueron secadas en la estufa (Lab-Line®) 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.

#### Porcentaje de infección micorrízica

Para determinar el porcentaje de colonización de los HMA nativos en el sistema radical de *M. esculenta*, las raicillas de cada planta se cortaron en segmentos de 2 cm de longitud y se les aplicó un procedimiento de decoloración y tinción de Phillips y Hayman (1970), con modificaciones de Dodd *et al.* (2001), que consistió en: sumergir aproximadamente 2 g de raicillas (previamente colocadas en cápsulas plásticas “tissue teck”) en KOH al 1%, en baño de María a 90°C durante 5 min para despigmentar los tejidos corticales. Luego el exceso de KOH se eliminó mediante el lavado con agua destilada, y posteriormente, fueron sumergidas en HCl al 1% durante 10 min para neutralizar el KOH. El exceso de HCl se decantó y se colocaron las muestras en tubos de tinción, para cubrirlas con lactofenol y colorante de azul de tripano al 0,05% por 24 h. Posteriormente, el exceso de colorante fue eliminado lavando las muestras con agua destilada y, finalmente, se colocaron en lactoglicerina para su posterior evaluación.

Se evaluó por triplicado, una muestra de 10 segmentos de raíces de aproximadamente 2 cm de longitud de cada tratamiento, los cuales fueron colocados paralelamente en portaobjetos 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.

La frecuencia de micorrización (%F) y riqueza de arbusculos (%A) en la corteza

radical que representan las variables del porcentaje de infección de los HMA, se evaluaron según el método de Trouvelot *et al.* (1986), en el cual se contaron los interceptos con y sin evidencias de infección, con un microscopio 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 arbusculos en cada porción infectada fue categorizada entre A<sub>0</sub> (0% arbusculos) hasta A<sub>3</sub> (100% arbusculos), aplicando las siguientes fórmulas:

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

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

$$a (\%) = (10 mA1 + 50 mA2 + 100 mA3) / 100$$

$$mA \text{ o } M (\%) = (n1A + 5 n2A + 30 n3A + 70 n4A + 95 n5A) / 100$$

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

Aislamiento y cuantificación de esporas de hongos formadores de micorrizas arbusculares

Para la extracción de esporas de los hongos micorrízicos arbusculares se siguió el método del tamizado húmedo de Gerdemann y Nicolson (1963). En una balanza analítica (Denver Instrument Company, modelo TR-64) se pesaron 100 g de suelo de cada muestra y se colocaron en un beaker de vidrio de 500 mL de capacidad, se

mezclaron con 300 mL de agua de chorro, y se agitaron 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 centrifuga a los cuales se les añadió 10 mL de sacarosa al 60%, estos fueron colocados en una centrifuga (Hamilton Bell V 6500) a 3 000 rpm durante 3,5 min, luego el sobrenadante se vertió sobre el tamiz de 35  $\mu\text{m}$ , donde fueron lavadas las esporas con abundante agua de chorro. El residuo resultante fue colocado en una cápsula de Petri para su conteo. Las esporas se observaron en un microscopio estereoscópico marca Motic serie B-1 a 60X y la cantidad total de esporas cuantificadas se expresó por 100 g de suelo.

### **Análisis estadísticos**

Se usó un diseño de bloques al azar con arreglo factorial (4 x 3 x 3), donde fueron empleados cuatro tratamientos distribuidos aleatoriamente en tres bloques, con tres replicas, para un total de 36 unidades experimentales. Los resultados fueron analizados estadísticamente con la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis y para los tratamientos significativos se realizó la prueba *a posteriori* de Duncan, con un nivel de significancia de 0,05, utilizando el programa estadístico Statgraphics Centurion.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Análisis fisicoquímico del suelo

El análisis fisicoquímico del suelo estudiado (Tabla 1) refleja de forma general que es de textura franco arenosa, presentando pH medianamente ácido, muy baja saturación de aluminio y capacidad de intercambio catiónico (CIC), bajos niveles de conductividad eléctrica (CE), fósforo asimilable, sodio, potasio y calcio.

Tabla 1. Análisis fisicoquímico de un suelo de vivero proveniente de una plantación ubicada en la población de San Fernando, comunidad San Fernando, municipio Montes, estado Sucre, Venezuela.

Determinaciones analíticas	Unidad	
Textura		Franco arenoso
Porcentaje de Arcilla	%	9,15
pH		5,98
Conductividad eléctrica (CE)	dS/m a 25°C	0,40 B
Capacidad de intercambio catiónico (CIC)	meq/100g de suelo	7,40 MB
Saturación de aluminio (SAI <sup>3+</sup> )	%	0,00 MB
Materia orgánica (MO)	%	4,72 N
Fósforo asimilable	mg/kg	5,60 B
Sodio (Na <sup>+</sup> )	meq/100g de suelo	0,20 B
Potasio (K <sup>+</sup> )	meq/100g de suelo	0,02 B
Calcio (Ca <sup>++</sup> )	meq/100g de suelo	4,00 B
Magnesio (Mg <sup>++</sup> )	meq/100g de suelo	0,60 N

A: alto, N: normal, B: bajo y MB: muy bajo.

El suelo es un cuerpo natural de los sistemas terrestres, que influye en la regulación y purificación del agua y gases, interviene en el intercambio gaseoso, tiene la capacidad de soportar vida, es un detoxificante de los residuos urbanos e industriales y contribuye en la descomposición de la materia orgánica (Angers y Caron, 1998; Torres-Guerrero *et al.*, 2013); por lo que se puede decir, que los suelos son la base de los sembradíos, debido a que es su soporte natural, y de él toman las raíces el agua y los nutrientes minerales. La textura franco arenosa del suelo estudiado en esta investigación, lo clasifica como un terreno ligero que se caracteriza por ser inerte, de pH ácido, con poca capacidad de retención de agua, elevada permeabilidad, buen drenaje y buena

aireación. Navarro y Navarro (2003) consideran que los suelos francos (cualquiera de sus numerosas subdivisiones) son los más importantes desde el punto de vista agrícola, ya que se trata de suelos fácilmente laborables, porque son ligeros, facilitan una menor retención de agua y la aparición de un mayor espacio poroso que permite su buena aireación y drenaje, con lo que aumenta la absorción del agua disponible por el sistema radical de las plantas.

El suelo empleado en este ensayo presenta un pH de 5,98, que lo clasifica como medianamente ácido. El pH óptimo para la mayoría de los cultivos debería estar entre 6 y 7, aunque muchos cultivos de origen tropical pueden crecer bien con un pH medianamente ácido de 5,5 a 6 (Garrido, 1994; Bernal *et al.*, 2015; Toledo, 2016; Rivera *et al.*, 2018). Azcón-Bieto y Talón (2013) expresan que la mayoría de las plantas crece en terrenos cuyo pH oscila entre 4 y 8; además, en los extremos de este intervalo se producen situaciones de estrés, a las que se han adaptado diversas especies que se clasifican como plantas: basófilas, que viven en suelos con valores de pH entre 8 y 9; y acidófilas, que viven en sustratos con un pH inferior a 4. Este factor determina la disponibilidad de muchos de los elementos necesarios para el crecimiento de las plantas; afecta la acción de los microorganismos del suelo, que son responsables de la mineralización de la materia orgánica para poner a disposición de los cultivos los nutrientes contenidos en ésta; e influye en la capacidad de absorción del agua por el sistema radical (Castillo, 1987; Garrido, 1994; Bernal *et al.*, 2015; Toledo, 2016; Rivera *et al.*, 2018).

El pH medianamente ácido del suelo empleado en esta investigación permite que abunden los hidrogeniones y el aluminio, lo que impide que otros elementos esenciales para las plantas como el calcio, magnesio, sodio o potasio permanezcan en él, pasando a la fracción soluble y siendo fácilmente eliminados con el agua de lluvia o de riego (Castillo, 1987; Navarro y Navarro, 2003). Por esta razón, el suelo presenta bajos niveles de calcio, sodio y potasio (4; 0,2 y 0,02 meq/100g de suelo, respectivamente).

El calcio se absorbe como ion divalente ( $\text{Ca}^{2+}$ ) y es necesario para la integridad y la funcionalidad de las membranas, estabilización de la pared celular y las proteínas (Castillo, 1987). Se ha demostrado que está implicado como segundo mensajero en el

funcionamiento de algunas hormonas y en respuestas ambientales (Azcón-Bieto y Talón, 2013). Los síntomas de su deficiencia se observan inicialmente en hojas jóvenes dado su baja movilidad; en general, se observan meristemas apicales deformados, pequeños o sin crecimiento; las yemas en forma de gancho, los brotes del tallo o de flores se caen y en las hojas maduras se presenta clorosis marginal y pérdida de turgor, también en las raíces donde los ápices de estas se cubren de una sustancia viscosa o mucilaginoso y se tornan a un color negro (Martínez *et al.*, 2009; Azcón-Bieto y Talón, 2013).

El sodio, se encuentra como catión monovalente ( $\text{Na}^+$ ) y algunas plantas lo contienen en concentraciones más propias de un macronutriente (por ejemplo, las halófitas). Sin embargo, esto se debe a un mecanismo adaptativo de control osmótico, aunque en general se tiende a absorber selectivamente más potasio que sodio (Azcón-Bieto y Talón, 2013). Es un elemento abundante en el medio natural y, puede ser utilizado por las plantas en pequeñas cantidades, al igual que los micronutrientes, como auxiliar para el metabolismo y la síntesis de la clorofila. En algunas plantas, se puede utilizar como un sustituto parcial de potasio y, además, es útil en la apertura y el cierre de estomas, lo cual ayuda a regular el equilibrio interno de agua pero, en pequeñas cantidades ya que su exceso provoca grandes problemas; se pueden producir diferentes daños como, por ejemplo: marchitamiento repentino, retraso de crecimiento, quemaduras marginales en las hojas (especialmente en las hojas inferiores y viejas), amarillamiento y caída en las hojas, desarrollo restringido de las raíces, muerte gradual o repentina de las plantas (Álvaro, 2020).

El potasio ( $\text{K}^+$ ) es importante en la síntesis y transporte de carbohidratos, síntesis de grasas y proteínas (Castillo, 1987); desempeña un papel clave en la osmorregulación que tiene lugar en los procesos de apertura y cierre estomáticos; activa más de 50 sistemas enzimáticos (entre los que destacan oxidoreductasas, deshidrogenasas, transferasas, sintetasas y quinasas) e interviene en el mantenimiento de la turgencia de las células (Castillo, 1987; Azcón-Bieto y Talón, 2013). En su ausencia, inicialmente se observa en las hojas maduras clorosis marginal e intervenal, enrollamientos, hojas arrugadas y brotes muy cortos. En general, se observa una planta débil, con tallos delgados y un sistema radical pobre, de escasas y cortas raíces con coloración parduzca

que poseen baja tolerancia a situaciones de estrés o ataques de enfermedades (Gierth y Mäser, 2007; Cabezas y Sánchez, 2008; Martínez *et al.*, 2009; Barrera *et al.*, 2010; Azcón-Bieto y Talón, 2013; Dussán *et al.*, 2015; Rivera *et al.*, 2018).

La disponibilidad del fósforo disminuye a un pH inferior a 6,5 debido a que el hierro y aluminio aumentan su solubilidad cuando el pH es menor, provocando la precipitación del fósforo como fosfatos insolubles (Navarro y Navarro, 2003; Azcón-Bieto y Talón, 2013; Rivera *et al.*, 2018). El pH de 5,98 del suelo de vivero usado en este ensayo, provoca que se observen bajos valores de fósforo asimilable (5,6 mg/kg). Sin embargo, estos niveles son característicos de suelos vírgenes o poco explotados. El fósforo es un elemento de gran importancia en la nutrición de las plantas y con frecuencia presenta limitaciones en la fertilidad de los suelos, ya que tiene un papel estructural importante en muchas moléculas y estructuras celulares, como los enlaces diéster presentes en los ácidos nucleicos y en los fosfolípidos, los cuales son fundamentales en las estructuras membranosas (Azcón-Bieto y Talón, 2013).

La conductividad eléctrica (CE) es un valor que indica la concentración de sales que pueden afectar a los cultivos y se correlaciona con algunas propiedades del suelo que afectan la productividad de las cosechas, incluyendo textura, capacidad de intercambio catiónico, condiciones de drenaje, contenido de materia orgánica, salinidad, y características del subsuelo (Garrido, 1994; Navarro y Navarro, 2003). La baja conductividad eléctrica (0,4 dS/m a 25°C), disminuye la presión osmótica del sustrato por lo que aumenta la disponibilidad de agua para las plantas.

La materia orgánica (MO) influye mucho en las propiedades químicas y físicas del terreno, por lo tanto, es importante tener una idea del contenido de MO en el suelo, ya que permite estimar en forma aproximada las reservas de N, P y S y su comportamiento en la dinámica de nutrientes (Kass, 1996; García, 2020). La materia orgánica mejora muchas propiedades químicas, físicas y microbiológicas que favorecen el crecimiento de las plantas ya que sufre diferentes procesos de transformación hasta llegar a sus componentes elementales, macro y microelementos, que la planta puede absorber (King *et al.*, 2019; García, 2020). Los constituyentes básicos: proteínas, hidratos de carbono, y ácidos orgánicos complejos, sufren una transformación de su

estructura denominada mineralización rápida, hacia compuestos más sencillos, los cuales por acción microbiana pasarán a mineralizarse formando compuestos inorgánicos, solubles ( $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{NO}_2^-$ ) o gaseosos ( $\text{CO}_2$  y  $\text{NH}_3$ ) (Seremesic *et al.*, 2017; García, 2020).

Las arcillas y MO del suelo tienen la propiedad de comportarse como iones de carga negativa, aniones, de forma que son capaces de retener o adsorber cationes. Esta capacidad del sustrato es lo que le permite retener los elementos necesarios para nutrir a las plantas, que de otra forma estarían en la solución del suelo fácilmente disponibles para su lavado en profundidad. Así, cuanto mayor sea la capacidad de intercambio catiónico (CIC) mayor será la fertilidad natural del terreno (Garrido, 1994; Azcón-Bieto y Talón, 2013). La muy baja CIC (7,40 meq/100g de suelo) muestra que el sustrato en estudio tienen una pobre habilidad para retener cationes y, por lo tanto, presenta baja disponibilidad y cantidad potencial de nutrientes para la planta (López y Estrada, 2015).

### **Evaluación de la parte aérea de las plantas**

En la Figura 1, se observa el comportamiento de la altura promedio en plantas de yuca inoculadas con HMA nativos y regadas durante 70 días con las distintas concentraciones de residuos del agua de cultivo de *Chlorella vulgaris* (0, 25, 50 y 100%). Los resultados muestran la existencia de diferencias estadísticamente significativas en los días 30 (KW= 0,0370379;  $p < 0,05$ ), 45 (KW= 0,0213257;  $p < 0,05$ ), 60 (KW= 0,00472294;  $p < 0,05$ ) y 70 (KW= 0,00269963;  $p < 0,05$ ) de aplicación de los tratamientos, siendo las plantas regadas con la concentración de 100% las que registran los valores promedios más bajos en comparación con las demás concentraciones empleadas en este bioensayo. Sin embargo, se observaron diferencias estadísticamente no significativas en los días 0 (KW= 0,508826;  $p > 0,05$ ) y 15 (KW= 0,435801;  $p > 0,05$ ) de experimentación.

Las medidas de la altura promedio de las plantas de yuca micorrizadas y fertilizadas con residuos del agua de cultivo de *C. vulgaris* en las distintas concentraciones (0, 25, 50 y 100%) reflejan a partir del día 15 de experimentación, que a medida que aumenta la concentración de residuos disminuye la altura de las plantas,

siendo las plantas control las que registran los mayores valores.

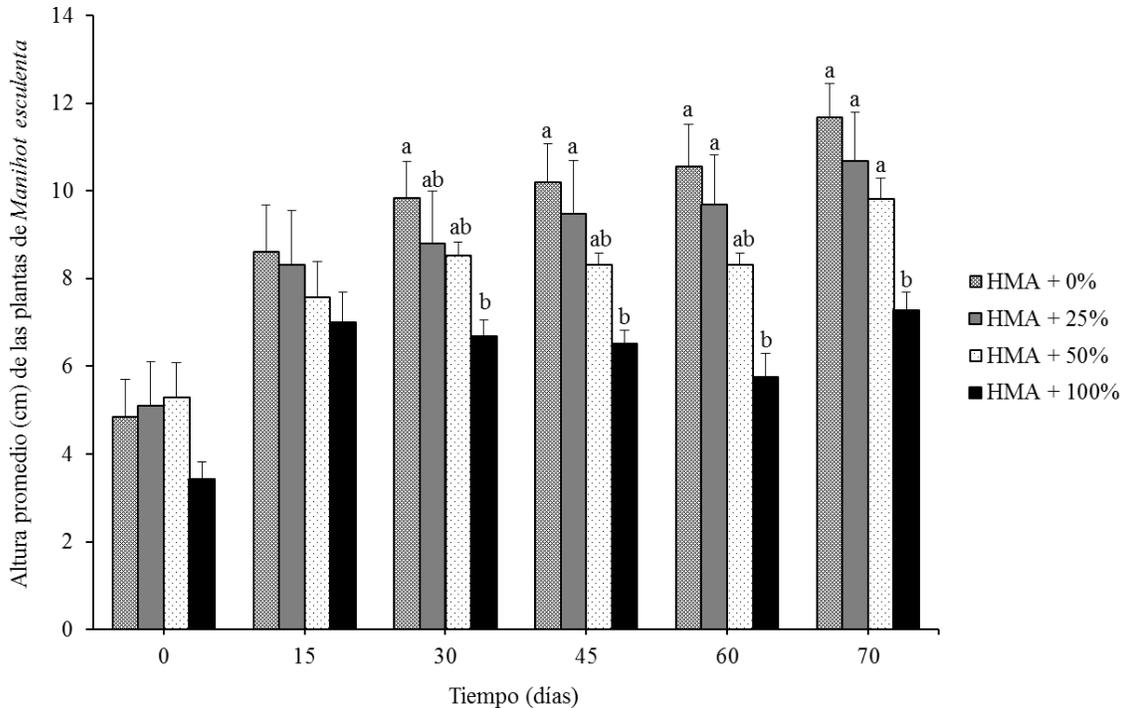


Figura 1. Altura de las plantas de *Manihot esculenta*, cultivadas en suelos micorrízados durante los 70 días de aplicación de las distintas concentraciones de residuos del agua de cultivo de *Chlorella vulgaris* (0, 25, 50 y 100%). Los valores son los promedios  $\pm$  el error estándar (n=9). Las letras sobre las barras indican la existencia de diferencias significativas mientras que la ausencia de estas señala la existencia de diferencias estadísticamente no significativa.

El comportamiento en la altura de las plantas de *M. esculenta* micorrizadas, demuestra que las dosis agregadas de residuos del agua de cultivo de *C. vulgaris* (25, 50 y 100%) desequilibran la simbiosis establecida entre el sistema radical de la yuca y los HMA nativos, lo cual a su vez influye en la efectividad de estos hongos principalmente en su capacidad para movilizar los nutrientes disponibles en el suelo a las raíces de la planta hospedera, afectando negativamente el crecimiento de *M. esculenta* en los 30, 45, 60 y 70 días de aplicación de los tratamientos. Estos resultados pueden ser atribuidos a que *M. esculenta* se cultiva fundamentalmente en los trópicos y en terrenos considerados marginales, infértiles, ácidos y con largos períodos de sequía (Mederos, 2006), por lo que es clasificada como una planta micorrízico dependiente (Janos, 1980; Sieverding,

1991; Velandia, 2006; Carretero *et al.*, 2009), ya que son los HMA los que le permiten desarrollarse en estas condiciones ambientales poco favorables, como las empleadas en este bioensayo.

Los factores asociados con la dependencia micorrízica de la planta, se relacionan principalmente con la especie de la planta hospedera, variedad, cultivar, estado nutricional, edad y presencia de compuestos fungistáticos o alelopáticos; debido a que influyen en los HMA en general, puesto que son poco específicos, cuando se comparan con otros sistemas biotróficos, por lo que son considerados universales (Siqueira y Franco, 1988). Gerdemann (1975) y Van der Heijden (2002) definen la dependencia micorrízica como “el grado de relación en el cual una planta es dependiente de la condición micorrízica para producir su máximo crecimiento o producción, en una fertilidad dada de suelo”; teniendo en cuenta este concepto las plantas se agrupan en: micotróficas obligadas, facultativas y no micotróficas. Las diferencias entre el grado de micotrofismo de algunas especies, e incluso de las variedades de una misma especie, dependen en gran medida del tipo y hábito radical (Howeler y Sieverding, 1982; Dodd *et al.*, 1990; Diederichs y Moawad, 1993; Van der Heijden, 2002; Lugo, 2021).

Medina (2021) señala que el efecto más importante que produce la colonización de los HMA en las plantas hospederas es un incremento en la absorción de nutrientes minerales del suelo, principalmente P (elemento limitante en muchas áreas productoras de América Latina, particularmente en los suelos agrícolas del estado Sucre empleados en este ensayo), que se traduce en un mayor crecimiento y desarrollo. Otros estudios señalan que los efectos benéficos aparte del incremento en la superficie de absorción de agua y nutrientes, son: la extensión de la vida útil de las raíces absorbentes, mejoramiento de la absorción iónica, aumento de la capacidad fotosintética de las plantas, por ende, mayor producción de biomasa, resistencia de las raíces a infecciones causadas por patógenos, incremento de la tolerancia de las plantas a toxinas del suelo (orgánicas e inorgánicas), valores extremos de acidez del suelo y disminuye el estrés causado por factores ambientales (Aguilera *et al.*, 2007; Kapoor *et al.*, 2008; Siddiqui y Akhtar, 2008; Harris *et al.*, 2009; Smith y Read, 2009; Camargo-Ricalde *et al.*, 2012; Azcón-Bieto y Talón, 2013; Pérez *et al.*, 2018).

La yuca es un cultivo que en promedio puede extraer del suelo 4,42 kg/ha de N; 0,67 kg/ha de P y 3,58 kg/ha de K; que corresponde a una extracción media de nutrientes por tonelada de raíces frescas (Cadavid, 2011; Aguilar *et al.*, 2016). Como se señaló anteriormente, el P un elemento limitante en los suelos del estado Sucre (particularmente en el empleado en este bioensayo, Tabla 1), por lo que las plantas y los microorganismos presentes en estos sustratos compiten por las cantidades limitadas de este macronutriente. Sin embargo, las hifas de los HMA exploran un mayor volumen de suelo y traslocan el ortofosfato inorgánico (Pi) desde el micelio extrarradicular al intrarradicular, y así lo liberan en las células corticales de la raíz. Estos procesos de absorción por parte de la planta y de los hongos micorrízicos están mediados por transportadores de Pi que son proteínas con varios dominios transmembrana que incorporan Pi a las células en contra de un gradiente de potencial electroquímico. Esta incorporación de Pi al protoplasto es dependiente de la actividad de ATPasas y se lleva a cabo involucrando un simporte con protones o sodio (Saparrat *et al.*, 2020). También pueden movilizar nitrógeno, potasio, calcio, azufre, hierro, manganeso, cobre y zinc, por lo que la simbiosis micorrízica suministra un enlace crítico entre el sistema radical y el suelo, que contribuye significativamente en la productividad del rubro (Azcón y Barea, 1980; Sieverding, 1991; Liasu y Ogundola, 2006; Yeasmin *et al.*, 2007).

Por otro lado, los residuos del agua de cultivo de *Chlorella vulgaris* están cargados de nutrientes después del cultivo o cosecha de las microalgas (recogida). Estos nutrientes están lo suficientemente concentrados como para alterar la efectividad de la simbiosis micorrízica, afectando de forma negativa el crecimiento de las plantas de yuca. Powell y Bagyaraj (1984) establecen que la respuesta de las plantas hospederas a la micorrización depende de la fertilidad del suelo y está influenciada tanto por la planta hospedera como por los HMA y es usada para medir la efectividad fúngica. Agüero-Fernández *et al.* (2016) explican que el mayor beneficio de las plantas por la micorrización deriva en un crecimiento superior por un incremento de la absorción de P cuando este elemento es limitante en el suelo, mientras que cuando no es limitante, el beneficio es nulo o reducido, según el grado de dependencia micorrízica de la planta. Adicionalmente, Medina (2011) indica que cambios en las características fisicoquímicas

del suelo y el grado de compatibilidad de la planta con el inóculo micorrízico, bajo las condiciones establecidas en el bioensayo, influyen directamente en la expresión de los beneficios de la simbiosis en la nutrición del hospedero, que repercute en la inversión energética de la planta para el crecimiento y desarrollo de la parte aérea de manera general.

En la Figura 2, donde se muestra el grosor del cuello del tallo de *Manihot esculenta* cultivada en suelos micorrizados y fertilizados con distintas concentraciones de residuos del agua de cultivo de microalgas, durante los 70 días de experimentación, se observan diferencias estadísticamente no significativas en los días 0 (KW= 0,672056;  $p>0,05$ ), 15 (KW= 0,64661;  $p>0,05$ ), 30 (KW= 0,292241;  $p>0,05$ ), 45 (KW= 0,279577;  $p>0,05$ ), 60 (KW= 0,358365;  $p>0,05$ ) y 70 (KW= 0,0766305;  $p>0,05$ ). Sin embargo, el tratamiento control, es decir, sin residuos (0%), registra los mayores valores en comparación con las plantas sometidas a las distintas concentraciones de residuos. Adicionalmente, este tratamiento exhibe un aumento constante de esta variable durante el tiempo de experimentación.

Los resultados obtenidos pueden ser atribuidos a que la aplicación semanal de las distintas concentraciones de residuos del agua del cultivo de *C. vulgaris* (25, 50 y 100%) aumentan la disponibilidad de nutrientes en el sustrato, lo que afecta directamente la efectividad de la micorrización del sistema radical de las plantas de yuca, la cual se reduce en suelos fértiles (Calderón *et al.*, 2000; Parada *et al.*, 2001; Castillo *et al.*, 2009). Smith (1988) indica que para que la asociación micorrízica alcance la mayor eficiencia, el sustrato donde crezca el hospedero debe tener bajo contenido P, ya que esta condición permite lograr el máximo crecimiento y desarrollo de las plantas micorrizadas. Adicionalmente, Saldaña *et al.* (2014) establecen que bajos niveles de P en el suelo favorecen el establecimiento de la simbiosis micorrízica; mientras que concentraciones elevadas de este macronutriente ocasiona la disminución en la expresión de estructuras fúngicas, como hifas y arbusculos. Este fenómeno reduce la capacidad de los HMA para la movilización de nutrientes y agua desde el suelo hacia el sistema radical de la planta hospedera, lo cual, disminuye significativamente el desarrollo de la parte aérea del rubro, afectando principalmente su altura y grosor del cuello del tallo (Milano, 2019),

como pudo ser visualizado en los resultados de este ensayo.

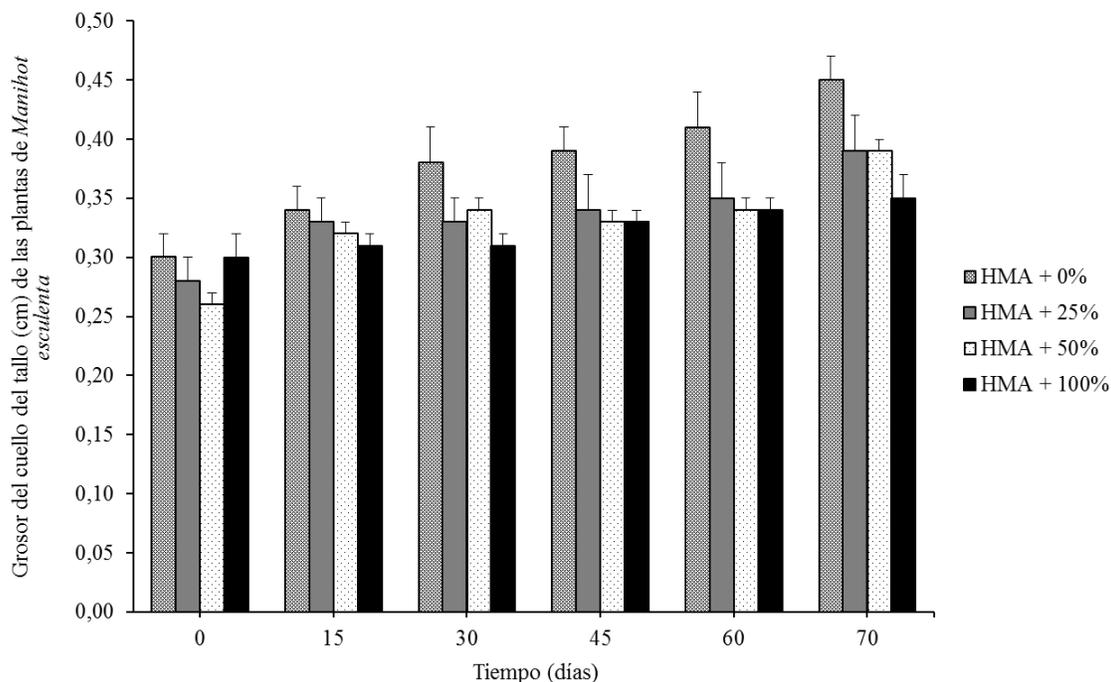


Figura 2. Grosor del cuello del tallo de las plantas de *Manihot esculenta*, cultivadas en suelos micorrizados durante los 70 días de aplicación de las distintas concentraciones de residuos del agua de cultivo de *Chlorella vulgaris* (0, 25, 50 y 100%). Los valores son los promedios  $\pm$  el error estándar (n=9). La ausencia de letras sobre las barras indica la existencia de diferencias estadísticamente no significativas.

Los HMA reaccionan de distintas formas a los fertilizantes a los que son expuestos. Al respecto, Quiñones-Aguilar *et al.* (1998) en su estudio sobre los hongos endomicorrízicos arbusculares y diferentes sustratos en el crecimiento de *Carica papaya* L., en vivero, reportan que al inocular plantas de papaya con *Glomus* sp. Zac-2 y *G. aggregatum* FS-39 cultivadas en el suelo y en sustrato con humus de pulpa de café se obtuvieron incrementos en el crecimiento de las plantas desde 400 hasta 1000%; sin embargo, cuando el humus provenía de cachaza de caña de azúcar no hubo diferencias significativas en el crecimiento de las plantas, probablemente debido al alto contenido de nutrimentos del sustrato.

Por su parte, Olivera *et al.* (2010) estudiaron diferentes alternativas de fertilización para mejorar la producción de la caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) e indican

que la aplicación del producto Ecomic (micorrizas arbusculares comerciales) con un suplemento de fertilizante mineral (NPK), registró los valores más elevados de altura y diámetro del tallo en comparación con los tratamientos con fertilización química (NPK + urea) y los abonados con humus sólido y líquido.

Medina (2011) al evaluar el efecto de la esterilización del suelo, la fertilización fosfórica (0, 25 y 50 ppm de P) y la inoculación con micorrizas arbusculares (HMA nativos asociado al suelo del vivero donde se recolectó el perejil, *Funneliformis mosseae* y *Scutellospora heterogama*) en el crecimiento y desarrollo de plántulas de perejil (*Petroselinum sativum* Hoffm.) en condiciones de vivero; registró que las plantas de perejil inoculadas con *F. mosseae*, establecidas en suelos previamente esterilizados y con fertilización fosfórica de 25 ppm, manifestaron incrementos significativos del 31, 30, 40, 87 y 27% en la altura, grosor del cuello del tallo, número de hojas, biomasa seca y sobrevivencia de las plantas, respectivamente, en contraste con los valores registrados por el control absoluto. Por lo tanto, concluye que las variaciones en el comportamiento de los parámetros de crecimiento y desarrollo, la sobrevivencia y el porcentaje de infección del sistema radical de las plantas de perejil, dependen de las condiciones ambientales establecidas en cada tratamiento.

Quiñones-Aguilar *et al.* (2012) registran que el crecimiento de las plantas de papaya (altura de planta, diámetro de tallo, área foliar, volumen radical, biomasa seca radical y biomasa seca de follaje) se incrementó significativamente cuando éstas se inocularon con *Glomus* sp. Zac-2, pero la intensidad de este efecto se modificó por la dosis (0, 30, 60 y 90 mg kg<sup>-1</sup> de P) y fuente de P empleada como fertilizante (superfosfato triple, superfosfato simple y roca fosfórica).

Milano (2019) indica que la aplicación de las distintas concentraciones de vermicompost (0, 15, 30 y 45%) no afecta significativamente la altura, número de hojas fotosintéticas, longitud del sistema radical y biomasa seca de las plantas de frijol pico negro (*Vigna unguiculata* L. Waph.) cultivadas en suelos inoculados con HMA nativos, bajo condiciones de vivero. Sin embargo, la fertilización con 45% de humus sólido perturba la eficiencia de la simbiosis establecida por los HMA nativos e influye negativamente en la altura y el grosor del cuello del tallo de *V. unguiculata*.

Los resultados obtenidos por los autores citados previamente son un claro indicativo de la reacción específica de las micorrizas al tipo de fertilizante y la dosis aplicada. Adicionalmente, estos efectos están condicionados por la especie del HMA y la planta hospedera involucrada en la simbiosis, por lo que la fertilización con residuos del agua de cultivo de *C. vulgaris* podrían tener un mejor efecto en el crecimiento y desarrollo de *M. esculenta* si se inoculan con diferentes especies de HMA.

El efecto del riego continuo con las distintas concentraciones de residuos del agua de cultivo de microalgas (0, 25, 50 y 100%) sobre el número de hojas fotosintéticas de las plantas de yuca cultivadas en suelos micorrizados durante los 70 días de experimentación, presentado en la Figura 3, indica la existencia de diferencias estadísticamente no significativas en los días 0 (KW= 0,0809279;  $p>0,05$ ), 30 (KW= 0,186924;  $p>0,05$ ), 45 (KW= 0,563694;  $p>0,05$ ), 60 (KW= 0,540197;  $p>0,05$ ) y 70 (KW= 0,997859;  $p>0,05$ ) de aplicación de los tratamientos. Mientras que a los 15 días después de haber iniciado la aplicación de los tratamientos se observaron diferencias estadísticamente significativas (KW= 0,0379745;  $p<0,05$ ), siendo el grupo control el que presenta el mayor número de hojas fotosintéticas; mientras que las plantas sometidas a la fertilización con el 25 y 50% de residuos muestran un comportamiento intermedio y las sometidas al 100% presentan los valores más bajos.

La presencia de un mayor número de hojas fotosintéticas en este bioensayo puede ser atribuida exclusivamente a la efectividad de la simbiosis micorrízica y a la dependencia de *M. esculenta* a esta asociación. Estos resultados concuerdan con los estudios de Ildermar *et al.* (2017), Milano (2019) y Medina (2021), los cuales indican que el número de hojas por planta está asociado tanto a la dependencia micorrízica como con la adaptación a ambientes pobres en nutrientes, así como con las especies involucradas en la simbiosis micorrízica.

Las hojas son los órganos en los cuales ocurre, principalmente, la fotosíntesis que permite la transformación de la energía radiante en energía química. Las hojas son caducas, es decir, envejecen, mueren y se desprenden de la planta a medida que esta se desarrolla. El número total de hojas producidas por la planta, su longevidad y capacidad fotosintética son características varietales, profundamente influidas por las condiciones

ambientales (Suárez y Mederos, 2011).

Rivera *et al.* (2003) exponen que la simbiosis establecida entre los HMA y las plantas hospederas produce una serie de cambios a nivel fisiológico, entre los que se pueden destacar el aumento de la tasa fotosintética e incremento de la síntesis de proteínas, clorofila, sustancias de crecimiento y metabolitos secundarios.

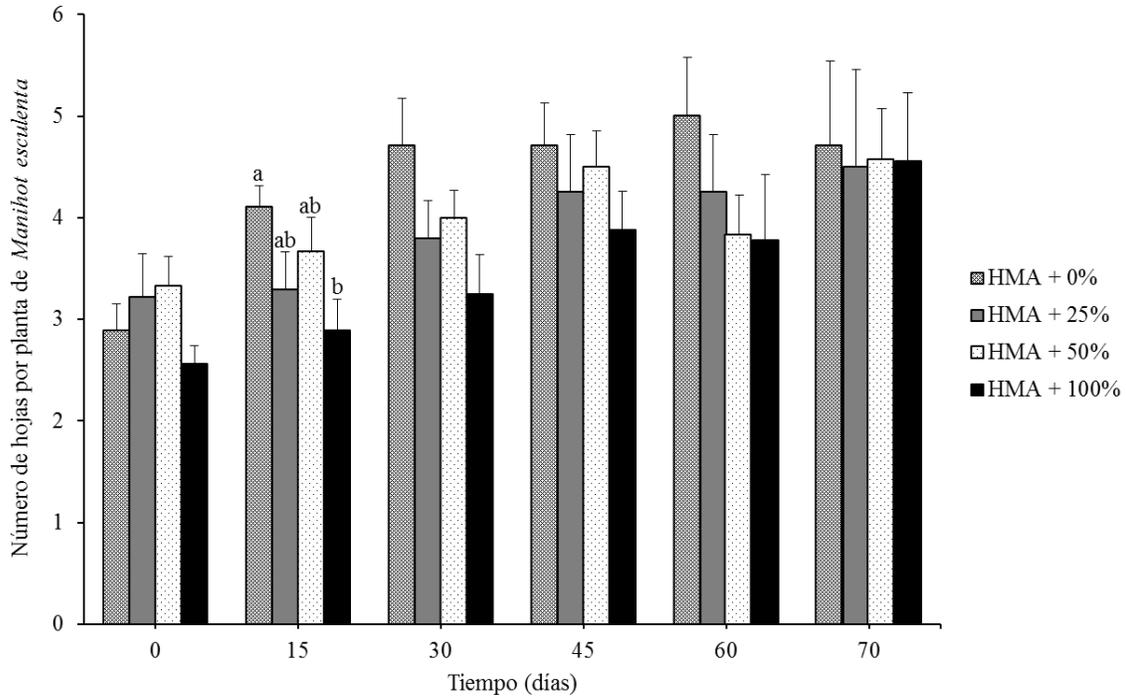


Figura 3. Número de hojas fotosintéticas de las plantas de *Manihot esculenta*, cultivadas en suelos micorrizados durante los 70 días de aplicación de las distintas concentraciones de residuos de agua del cultivo de *Chlorella vulgaris* (0, 25, 50 y 100%). Los valores son los promedios  $\pm$  el error estándar (n=9). Las letras sobre las barras indican la existencia de diferencias significativas, mientras que la ausencia de estas señala la existencia de diferencias estadísticamente no significativas.

Alarcón y Ferrera (1999) y Smith y Read (2009) agregan que el establecimiento de la simbiosis micorrízica representa un alto costo para la planta hospedera, debido a que genera un drenaje de fotosintatos desde la parte aérea hasta la zona radical, donde los compuestos carbonados asimilados por los HMA son destinados para la producción de la energía metabólica que asegura su mantenimiento y desarrollo. Sin embargo, durante la actividad fúngica, la planta produce la energía que garantiza el crecimiento y desarrollo

de sus órganos (tallo, hojas y raíces); por lo tanto, un mayor número de hojas fotosintéticas y la consecuente estimulación de la actividad fotosintética para la captura de carbono, compensa la transferencia continua de los compuestos carbonados que el micosimbionte demanda de su hospedero, mientras el micelio intra y extraradical de los HMA mejora la nutrición mineral de la planta hospedera (Barrer, 2009; Azcón-Bieto y Talón, 2013).

Por su parte, Medina (2011) demostró que los HMA al aumentar la traslocación de nutrientes del suelo a la planta, reducir los efectos del estrés hídrico y aumentar la resistencia a posibles invasiones de patógenos, que pueden afectar la salud de la planta; permiten que los recursos que la planta destinaría para afrontar esos problemas pueden ser redireccionados para su crecimiento (reflejado en valores elevados de altura) y la presencia de un mayor número de hojas fotosintéticas, este último evento afecta directamente la fotosíntesis de la planta y por lo tanto la producción de fotosintatos que son necesarios para el establecimiento de la simbiosis, ya que los esqueletos carbonados son esenciales para la sobrevivencia del fotosimbionte.

### **Longitud del sistema radical**

La longitud del sistema radical de las plantas de yuca cultivadas en suelos micorrizados y fertilizadas con distintas concentraciones de residuos del agua de cultivo de *Chlorella vulgaris* (Figura 4), presenta diferencias estadísticamente no significativas (KW= 0,761356;  $p > 0,05$ ), esto puede atribuirse a que este tipo de cultivo es perenne, es decir, con un ciclo de vida largo y su primera etapa de desarrollo es muy lenta, en la cual se comienza a establecer el cultivo y desarrollarse las raíces (Lozano *et al.*, 1977; Dannowski y Werner, 1997; Aguilera, 2012; Rodríguez *et al.*, 2016); que corresponde al tiempo en el que se realizó este ensayo (fase de vivero). La etapa de crecimiento lento de *M. esculenta* comprende desde la siembra hasta los 60 días después de la siembra (dds) y se caracteriza principalmente por la brotación de las estacas, la formación de las primeras raíces (5-7 dds) y el posterior desarrollo de tallos y hojas (Aguilar *et al.*, 2016). En esta fase los productos de la fotosíntesis son utilizados por estos órganos para su crecimiento.

Los resultados de esta variable, también pueden ser influenciados por el diámetro y forma del envase que no permitieron el mejor desarrollo del sistema radical, ya que se evidenció una mayor abundancia de raíces en el grupo control en comparación con los tratamientos fertilizados con 25, 50 y 100% de residuos. Torres-Guerrero *et al.* (2013) establecen que el espacio donde se desarrolle o establezca la planta influye en el desarrollo de su raíz.

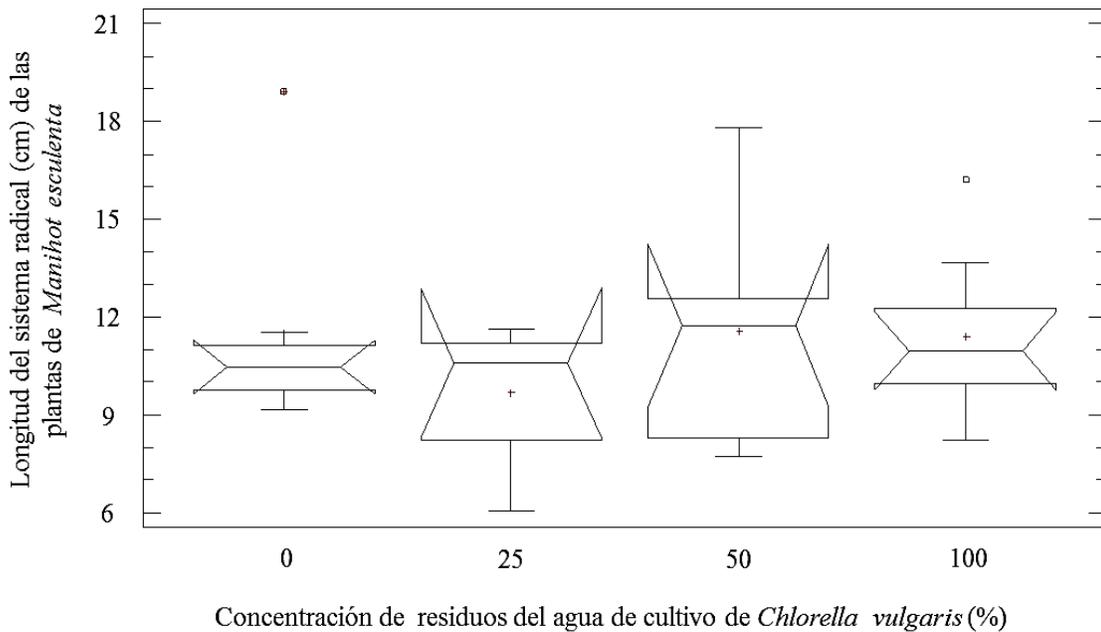


Figura 4. Longitud del sistema radical de las plantas de *Manihot esculenta*, cultivadas en suelos micorrizados y fertilizados con distintas concentraciones del residuo de agua del cultivo de *Chlorella vulgaris* (0, 25, 50 y 100%).

Por otro lado, es importante destacar que la capacidad de la planta de yuca para producir en suelos relativamente pobres está relacionada con la disposición especial de la planta para extraer nutrientes del suelo; el área de exploración de las raíces, puede llegar hasta un metro de profundidad, lo cual explica su crecimiento en suelos marginales (Arismendi, 2001). Sin embargo, la planta de yuca tiene un sistema radical bastante burdo, con raíces relativamente gruesas y pobremente ramificadas y los pelos radicales pueden estar presentes, pero no son muy abundantes (Arismendi, 2001), por lo que no pueden hacer uso eficiente de los nutrientes del suelo o sustrato, aun cuando

éstos no presenten problemas de disponibilidad (Alarcón y Ferrera, 1999). Por lo tanto, su capacidad de adaptarse y crecer en suelos poco fértiles está relacionada con su dependencia a la asociación micorrízica (Arismendi, 2001).

Saparrat *et al.* (2020) establece que la extensión de los HMA en la raíz de la planta hospedera se divide en tres fases. (i) La etapa inicial durante la cual se produce la infección primaria. (ii) La fase exponencial durante la cual el hongo se propaga inter e intracelularmente, especialmente en las raíces secundarias finas, de manera que el hongo crece más rápido que la raíz. Las hifas que crecen por fuera de las células corticales, penetran la raíz nuevamente a distancias irregulares. La propagación de la infección es interna o en la superficie de las raíces. (iii) La meseta durante la cual el crecimiento de la raíz y las hifas son similares. El nivel de infección de la meseta no es constante y los factores que afectan la tasa de crecimiento relativo del sistema radical y del micelio fúngico pueden ir cambiando según el equilibrio entre el desarrollo radical y los HMA involucrados en la simbiosis.

La simbiosis micorrízica le permite al cultivo un mayor crecimiento en la etapa inicial donde el sistema radicular es poco desarrollado (Filho y Nogueira, 2007), mejorar la eficiencia de las raíces para la extracción de nutrientes (Carretero *et al.*, 2009; Okon *et al.*, 2010; Séry *et al.*, 2016) y en consecuencia, el incremento en el rendimiento del cultivo (Séry *et al.*, 2016). Por lo tanto, el beneficio de la aplicación temprana de HMA nativos en el sustrato donde se cultivaron las plantas de yuca de este bioensayo, es el aumento de la capacidad del sistema radical de absorber agua y nutrientes; resultando principalmente en el aumento de la superficie de las raíces micorrizadas y el incremento de la tasa de absorción de nutrientes (Filho y Nogueira, 2007).

Las micorrizas también brindan protección a las plantas contra agentes patógenos. En el caso de la planta yuca, el Centro de Investigaciones de Agricultura Tropical (CIAT) demostró que la especie *Glomus manihotis* provee a *M. esculenta* de cierta barrera mecánica contra el patógeno *Phytophthora nicotianae* var. *nicotianae* al incrementar el sistema radical de la planta, favoreciendo el balance de fósforo y la acumulación de lignina (Amaya, 1991). Al respecto, Reyes (2011) indica que la colonización de las raíces por los HMA cambia en la planta aspectos relacionados con su

fisiología como la fotosíntesis, la producción de fitohormonas (citocininas y giberelinas), disminuye la permeabilidad de las membranas, afectando la dinámica de los exudados de la raíz, con lo que se afecta a la microflora de la rizosfera. El microambiente de la rizosfera y los organismos que la habitan, son diferentes al resto del suelo de la micorrizosfera (que es la zona influenciada por los HMA), ya que los hongos usan parte de los exudados y así modifican las funciones de la raíz (Medina, 2021).

### **Biomasa seca de las plantas**

En la Figura 5, que representa la biomasa seca promedio de las plantas de yuca cultivadas en suelos micorrizados y fertilizados con distintas concentraciones de residuos del agua de cultivo de *C. vulgaris*, se observa la existencia de diferencias estadísticamente no significativas (KW= 0,315069;  $p > 0,05$ ). Los resultados obtenidos en esta variable revelan que el uso de los residuos del agua de cultivo de *C. vulgaris* no genera un beneficio importante para la ganancia de biomasa seca de la parte aérea de *M. esculenta*. Sin embargo, los valores promedios de cada tratamiento indican que el mayor desempeño lo obtuvo la dosis de 25% de residuos y el menor la de 100%, con respecto al tratamiento control (0%).

El comportamiento de la biomasa seca de *M. esculenta*, al igual que las variables de crecimiento y desarrollo de la parte aérea (altura, grosor del cuello del tallo y número de hojas fotosintéticas), puede ser atribuido a la perturbación de la eficiencia de la simbiosis micorrízica ocasionada por los nutrientes aportados por la aplicación continua de residuos del agua de cultivo de *C. vulgaris*, siendo este efecto más pronunciado en la dosis de 100%. Al respecto, Pérez-Pazos *et al.* (2018) en su estudio sobre la acumulación de biomasa en *M. esculenta*, en condiciones de invernadero, ante la aplicación de diferentes niveles de fertilización inorgánica (0, 25, 50, 75 y 100% de NPK) y tres biofertilizantes microbianos disponibles comercialmente, Azobac® (*Azotobacter chroococcum*), Fosforiz® (*Pseudomonas fluorescens*) y Safer Micorrizas® (micorrizas arbusculares), en dos tipos de suelo (arenoso y franco-arcilloso) de manera individual y en mezcla, con un control (con los niveles de fertilización inorgánica sin inoculación); encontraron que la combinación de 25% de NPK + micorrizas presentó

una ganancia de biomasa mayor en comparación con los demás tratamientos de esta combinación. Adicionalmente, este tratamiento es capaz de igualar el efecto del tratamiento con fertilización completa sin biofertilizantes (NPK 100%), por lo que estos resultados demuestran que al aumentar los niveles de fertilización inorgánica se genera un declive de los efectos benéficos de los HMA sobre la biomasa de las plantas de yuca.

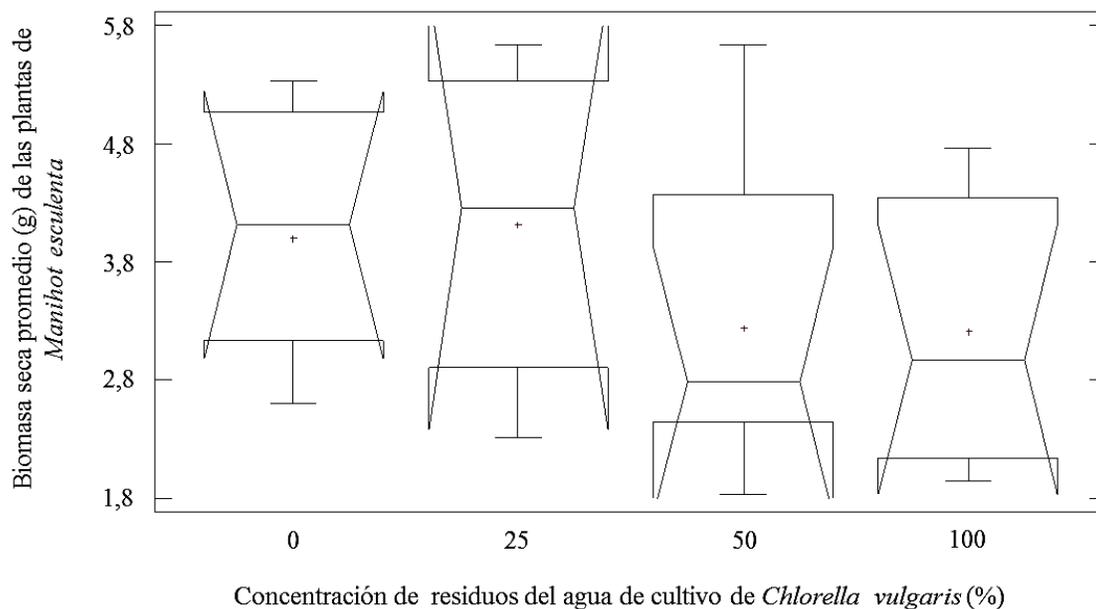


Figura 5. Biomasa seca promedio de las plantas de *Manihot esculenta*, cultivadas en suelos micorrizados y fertilizados con distintas concentraciones del residuo del agua de cultivo de *Chlorella vulgaris* (0, 25, 50 y 100%).

Carretero *et al.* (2009), Okon *et al.* (2010), Straker *et al.* (2010), Heberle *et al.* (2015), Begoude *et al.* (2016) y Séry *et al.* (2016) indican que las diferentes fuentes de fertilización inorgánica aplicadas en dosis bajas pueden ayudar a los microorganismos que forman parte de biofertilizantes comerciales (como los HMA) en la ganancia de biomasa de la planta hospedera, pero al incrementar las dosis de los abonos inorgánicos se puede generar una inhibición de la actividad biológica de estos microorganismos.

Por su parte, Velasco *et al.* (2001) contradicen los resultados obtenidos en este bioensayo, ya que al evaluar el efecto de la adición de vermicomposta e inoculación con el hongo endomicorrízico arbuscular *Glomus intraradix* y la bacteria *Azospirillum*

*brasiliense* sobre la producción de tomate de cáscara (variedad Rendidora), confirman que las plantas sometidas al uso combinado de microorganismos simbióticos como los HMA y la aplicación de abonos orgánicos como la vermicomposta presentan mayor biomasa y rendimiento que el grupo control (sin micorrización ni biofertilización) y los tratamientos individuales de vermicomposta, *G. intraradix* y *A. brasiliense*.

Todo lo anterior expuesto, permite indicar que el uso de las distintas concentraciones de residuos del agua de cultivo de *C. vulgaris* no es un buen acompañante de los HMA nativos en la fertilización de los suelos del estado Sucre que serán empleados para el cultivo de plantas micorrízico dependientes, como *M. esculenta*.

### **Porcentaje de infección micorrízica**

La infección micorrízica del sistema radical de *Manihot esculenta*, está determinada por dos parámetros fúngicos: frecuencia de micorrización (%F) y riqueza arbuscular total (%A). Los resultados obtenidos en esta investigación confirman que *M. esculenta* es una planta micotrófica obligada ya que los parámetros que determinan la infección micorrízica no variaron en los tratamientos establecidos en el ensayo, presentando diferencias no significativas para la frecuencia de micorrización (KW= 0,203539;  $p>0,05$ ) y riqueza arbuscular (KW= 0,0738835;  $p>0,05$ ).

En la Figura 6, se observan diferencias estadísticamente no significativas (KW= 0,203539;  $p>0,05$ ) en la frecuencia de micorrización (%F) del sistema radical de *Manihot esculenta* cultivada en suelos micorrizados y fertilizados con distintas concentraciones de residuos del agua de cultivo de *Chlorella vulgaris* (0, 25, 50 y 100%), la cual presenta un 100% de colonización del sistema radical a pesar de las distintas concentraciones de residuos aplicadas durante el tiempo de experimentación (80 días después de la emergencia de las plantas). Estos resultados son iguales a los reportados por Milano (2019) en su trabajo sobre el efecto de las diferentes concentraciones de vermicompost (0, 15, 30 y 45%) sobre el crecimiento vegetativo de *Vigna unguiculata* (frijol pico negro) cultivadas en suelos inoculados con HMA nativos, donde se registró un 100% de colonización del sistema radical de la planta hospedera sometida a todos los tratamientos establecidos en este estudio.

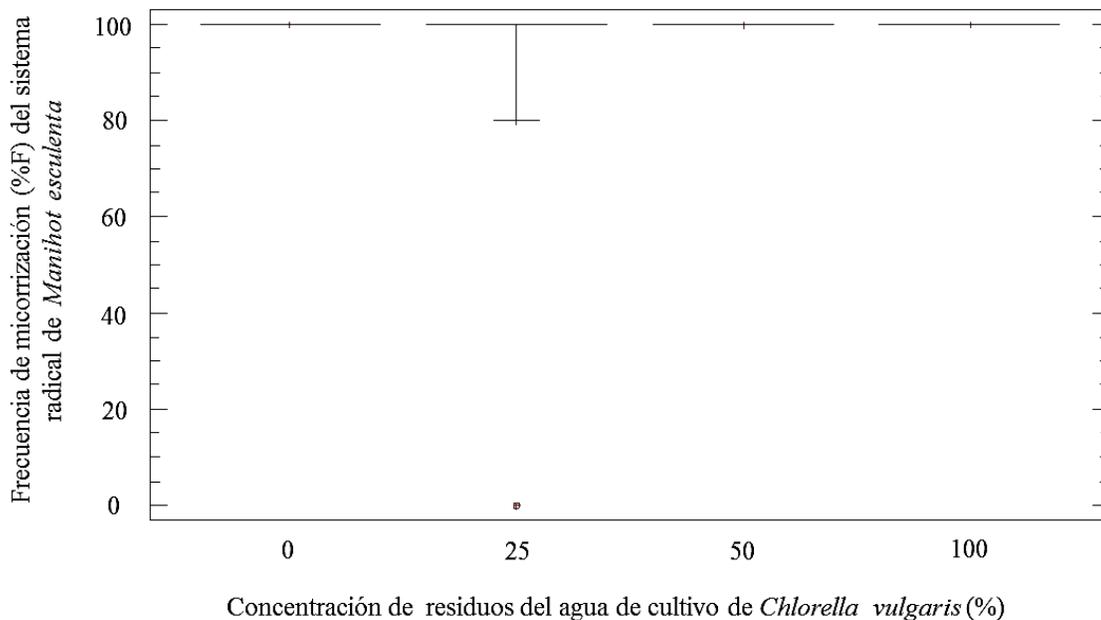


Figura 6. Frecuencia de micorrización (%F) del sistema radical de las plantas de *Manihot esculenta*, cultivadas en suelos micorrizados y fertilizados con distintas concentraciones de residuos del agua de cultivo de *Chlorella vulgaris* (0, 25, 50 y 100%).

Por su parte, Medina (2011) y Quiñones-Aguilar *et al.* (2012) contradicen los resultados obtenidos en este bioensayo, al sugerir que la colonización del sistema radical de las plantas hospederas (*Petroselinum sativum* y *Carica papaya*, respectivamente) se favorece por la adición de P en dosis relativamente altas (50 ppm y 90 mg kg<sup>-1</sup> de P, respectivamente), presentando %F menores al 85% en dosis bajas de fertilización fosfórica. Sin embargo, Medina (2011) indica que este nivel de fósforo (50 ppm) no garantiza la expresión de los mejores resultados en los parámetros de crecimiento y desarrollo del perejil y concluye que cada inóculo micorrízico (HMA nativos, *Funneliformis mosseae* y *Scutellospora heterogama*) presenta una actuación diferente en el hospedero, dependiendo de la fertilización del suelo.

Sieverding (1991) y Arcos (2004) consideran a la fertilización fosfórica como un arma de doble filo para la infección micorrízica, ya que elevadas concentraciones de P pueden inhibir la expresión de los beneficios de determinados HMA, mientras que

concentraciones bajas de este macronutriente pueden inducir o acelerar el proceso de colonización del sistema radical del huésped por parte de los HMA.

Sieverding y Howeler (1985) encontraron que ciertas especies de HMA nativos (como *Glomus manihotis*) difieren en cuanto a la tolerancia de altos niveles de P en el suelo, por lo que su porcentaje de colonización varía dependiendo de la disponibilidad de este elemento. Por estas razones, se puede deducir que las especies de HMA nativas asociadas al suelo utilizado en este estudio, pueden ser tolerantes a niveles altos o moderadamente altos de P, por lo que el 100% del %F del sistema radical de *M. esculenta* puede ser considerado un claro indicativo de que la adición continua de las distintas concentraciones de residuos del agua del cultivo de *C. vulgaris* (25, 50 y 100%) no tienen incidencia negativa en la tasa de infección micorrízica, es decir, no afecta la capacidad infectiva de los HMA nativos en cada uno de los tratamientos establecidos en este bioensayo, pero limitan la efectividad de la simbiosis micorrízica.

Al respecto, Aguinaga (2019) indica que la capacidad de los HMA para promover el desarrollo de los cultivos depende de su infectividad y efectividad; definiendo a la infectividad como 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; mientras que su efectividad se demuestra cuando mejora directa o indirectamente el crecimiento y desarrollo de la planta hospedera. Adicionalmente, Lugo (2021) señala que en todo sistema biológico, las interacciones son altamente dependientes de las condiciones en las que ocurren, por lo tanto el establecimiento y eficacia de la simbiosis HMA-planta hospedera dependerán del cultivo, las especies de hongos participantes y las condiciones del medio.

En la Figura 7, se muestra la riqueza arbuscular total (A%) del sistema radical de *M. esculenta* cultivada en suelos micorrizados y fertilizados con distintas concentraciones de residuos del agua de cultivo de *C. vulgaris* (0, 25, 50 y 100%), la cual presenta diferencias estadísticamente no significativas (KW= 0,0738835;  $p > 0,05$ ). Sin embargo, las plantas control (0% de residuos) registran la %A más elevada (47,62%) en comparación con los demás concentraciones de residuos aplicadas en este bioensayo.

León (2006) y Saldaña *et al.* (2014) señalan que la %A se considera un indicador

más preciso de la efectividad de la colonización micorrízica, ya que la presencia de arbusculos es un buen indicativo de la actividad metabólica asociada al transporte bilateral de sustancias a través de las membranas del endosimbionte y su hospedero.

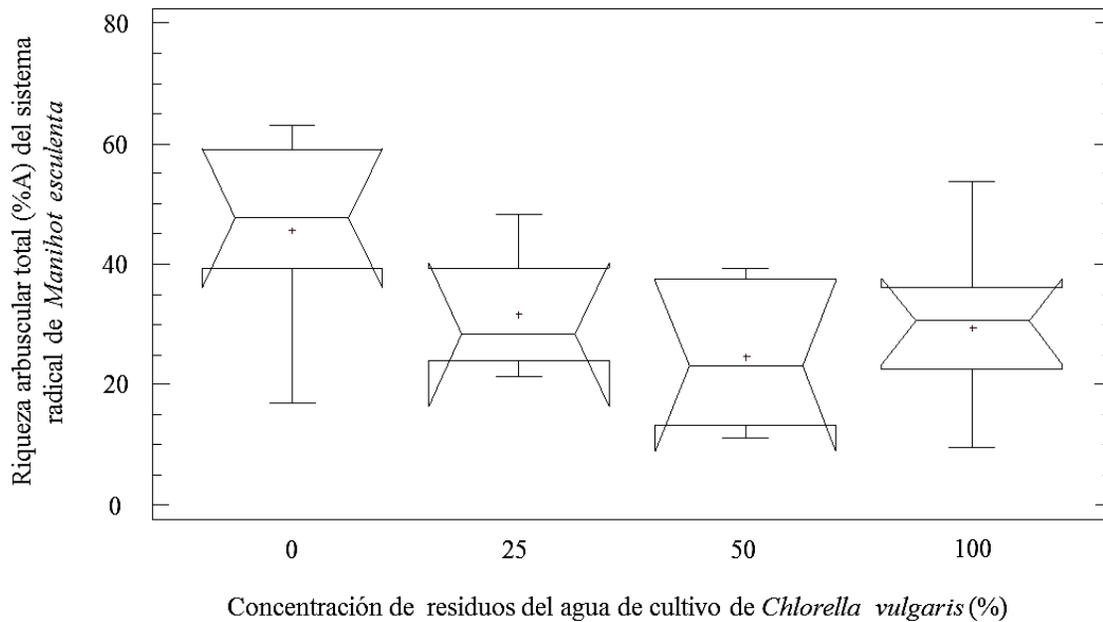


Figura 7. Riqueza arbuscular total (A%) del sistema radical de las plantas de *Manihot esculenta*, cultivadas en suelos micorrizados y fertilizados con distintas concentraciones de residuos del agua de cultivo de *Chlorella vulgaris* (0, 25, 50 y 100%).

Los arbusculos son estructuras características y únicas de los HMA. Consisten en hifas finamente ramificadas (divididas dicotómicamente) que se desarrollan entre la pared celular y la membrana plasmática de las células corticales (Barrer, 2009; Ruíz *et al.*, 2011; Camarena-Gutiérrez, 2012), poco después de la colonización de la raíz, 2 a 5 días (Gianinazzi *et al.*, 1979). Se consideran la estructura central de la simbiosis micorrízica arbuscular, debido a que juegan un papel crucial en las principales funciones de la interacción, como por ejemplo en el mejoramiento de la nutrición de la planta y el biocontrol de patógenos del suelo (Franken *et al.*, 2007; Camejo, 2016).

La vida media de un arbusculo en actividad es muy corta y varía entre dos y quince días, al cabo de los cuales se colapsa y permanece rodeado por el plasmalema de la célula vegetal, siendo encapsulado por el material depositado en la zona interfacial

proveniente presumiblemente del hospedero (Harley y Smith, 1983). Después que los arbusculos se colapsan son degradados completamente y las células del hospedero regresan a su fisiología normal (Camarena-Gutiérrez, 2012) y son capaces de albergar otro arbusculo (Paszkowski, 2006; Pumplin y Harris *et al.*, 2009). Este continuo proceso de degradación de arbusculos a la vez que se forman otros nuevos es ventajoso para la planta, porque un arbusculo en degradación, lleno de nutrientes puede liberar su contenido a la célula de la raíz de donde puede distribuirse a toda la planta (Salazar-García, 2002; Aguilera *et al.*, 2007).

La escasa formación de los arbusculos en las raíces de la planta hospedera es atribuida a incrementos en los niveles de P en el sustrato (Saldaña *et al.*, 2014). Para explicar este hecho se han propuesto varias hipótesis, de las cuales una de las más aceptadas señala que el aumento en el suministro de P a la planta disminuye la permeabilidad de las membranas de las células corticales, lo que a su vez reduce la concentración de carbohidratos solubles y compuestos nitrogenados en los exudados radicales, que serían inductores de la simbiosis micorrízica (Menge *et al.*, 1979; Thomson *et al.*, 1991; Mimbela, 2010). Por el contrario, cuando existe un nivel bajo de P en el sustrato se reduce el nivel de fosfolípidos en la membrana vegetal que conduce a una exudación radicular mayor, que trae como consecuencia una estimulación en la colonización del endófito (Smith y Read, 2009).

Al contrastar los resultados de la infección micorrízica con las variables de crecimiento y desarrollo de *M. esculenta* (altura, grosor del cuello del tallo, número de hojas fotosintéticas, longitud del sistema radical y biomasa seca), se puede considerar a la %F y %A como claros indicadores de que la fertilización del sustrato con las distintas concentraciones de residuos del agua de cultivo de *C. vulgaris* (25, 50 y 100%) genera un déficit en la efectividad de hongo pero no en su infectividad. Por lo tanto, se puede inferir que a pesar de que se logre el 100% de colonización de las raíces de *M. esculenta* esta no puede ser catalogada como una simbiosis exitosa, ya que la interacción HMA-planta hospedera es separada por una delgada frontera que la convertiría en una relación parasitaria, la cual es inducida por el elevado contenido de nutrientes en el suelo (aportados por los residuos del agua de cultivo de *C. vulgaris*); bajo estas circunstancias

los HMA nativos cesan sus actividades y se convierten en parásitos, disminuyendo el intercambio bilateral de nutrientes facilitado por los arbusculos, y aumentando la expresión de vesículas, las cuales mediarán la alimentación del hongo, ya que sirven de depósitos de compuestos carbonados (Sieverding, 1991; Medina, 2011; Marcano, 2012; Milano, 2019; Medina, 2021).

### **Cuantificación de esporas de hongos formadores de micorrizas arbusculares**

El número de esporas en 100 g de los suelos micorrizados y fertilizados con distintas concentraciones de residuos del agua de cultivo de *Chlorella vulgaris* (0, 25, 50 y 100%), mostrado en la Figura 8, refleja la existencia de diferencias estadísticamente no significativas (KW= 0,869282;  $p > 0,05$ ) entre los tratamientos, por lo que estos resultados permiten inferir que la esporulación de los HMA nativos presentes en la rizosfera de *M. esculenta* no es afectada por la concentración de los residuos aplicados al sustrato.

Las esporas son células únicas multinucleadas producidas blásticamente a partir de las hifas esporógenas en posición apical o intercalar (Saparratt *et al.*, 2020). Los HMA producen esporas o clamidosporas, células reproductivas asexuales, que permiten la dispersión (por agua o viento) y supervivencia a largo plazo del hongo, por lo que aumentan su número cuando las condiciones ambientales no son óptimas para su germinación y desarrollo (Peterson *et al.*, 2004; León, 2006; Velandia, 2006; Reyes, 2011; Marcano, 2012; Rivera *et al.*, 2014). En otras palabras, las esporas son definidas como células reproductivas morfológicamente especializadas que no contribuyen directamente en el desarrollo de la simbiosis micorrízica, pero garantizan la dispersión y supervivencia de los HMA (Medina, 2021).

La producción de esporas de estos hongos puede ser individualmente en el suelo, en el interior de las raíces de la planta hospedera, o formando densas masas no estructuradas o bien en esporocarpos en o cerca de la superficie del suelo (Reyes, 2011). Las paredes de las esporas están formadas por una o más láminas, que varían en grosor, estructura, apariencia y tinción a reactivos, características que también ayudan en taxonomía para identificar géneros y familias, mediante la elaboración de murogramas

específicos (Mimbela, 2012; Medina, 2021). Pueden ser lisas o presentar ornamentaciones en forma de espinas, papilas o reticulaciones, entre otras. Sus hifas son multinucleadas, cenocíticas, es decir, no hay paredes, membranas o septos que separen los núcleos (Peña-Venegas *et al.*, 2006; Smith y Read, 2009; Sánchez *et al.*, 2010; Reyes, 2011; Aguilar-Ulloa *et al.*, 2016).

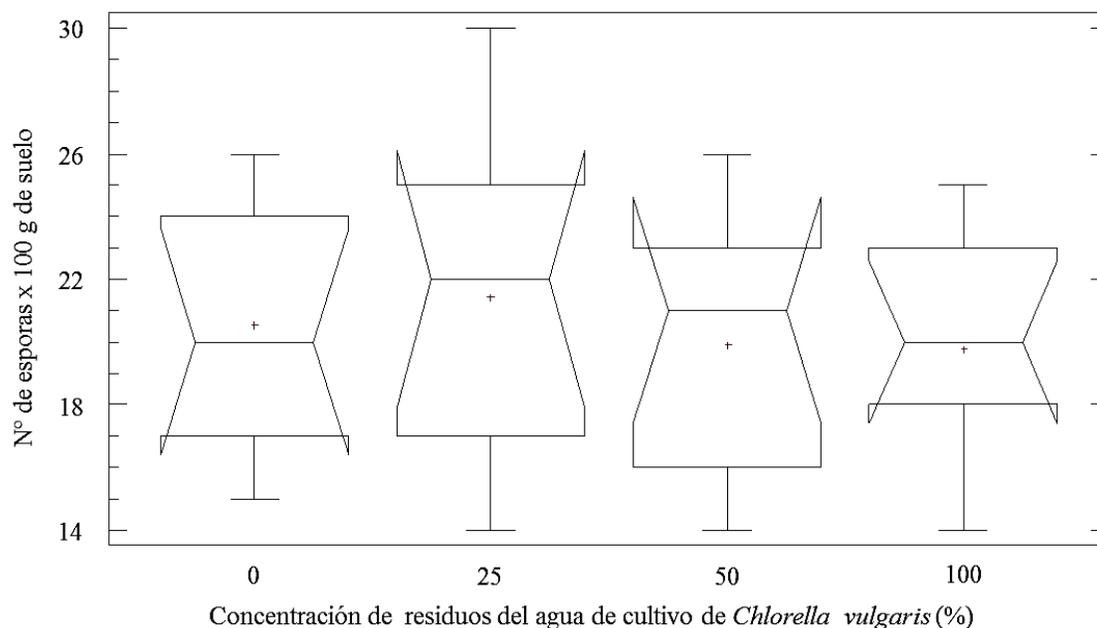


Figura 8. Número de esporas de HMA nativos x 100 g de suelo sometido a riego constante con distintas concentraciones de residuos del agua de cultivo de *Chlorella vulgaris* (0, 25, 50 y 100%), asociado a la rizosfera de las plantas de *Manihot esculenta*.

La abundancia de cada especie fúngica generalmente está representada a través de la cuantificación de esporas presente en la rizosfera (Abbott y Gazey, 1994). El número de esporas puede ser un estimado del grado de esporulación y de la riqueza de especies de HMA en condiciones controladas, sin embargo, el número de éstas encontradas en suelos naturales, no representa necesariamente la abundancia verdadera o la contribución ecológica del organismo de la especie presente, pero puede servir de referencia en estudios de diversidad de este simbionte (Stürmer y Bellei, 1994; Sanders *et al.*, 1996; Medina, 2011; Marcano, 2012). Aunque estas estructuras se encuentren en el suelo, su número es bajo y no pueden ser identificadas bien sea por daños físicos

debido a los cambios en las condiciones climáticas o al ataque de parásitos y depredadores (Lovera, 2004).

El número de esporas de HMA en el suelo que coloniza, a menudo está poco relacionado con la formación de micorrizas en el sistema radical de la planta hospedera (Medina, 2021). Smith y Read (2009) aseveran que, cuando el número de esporas es bajo no necesariamente indica una pobre infección de raíces pues es probable que en ese momento el hongo esté utilizando su energía para infectar las raíces en vez de producir esporas. Por el contrario, un alto número de esporas tampoco es criterio suficiente para decir que existe una colonización eficiente dentro de la raíz, por lo que es preciso que técnicas moleculares, amplificando el ADN de este órgano, puedan aclarar la efectividad de la colonización micorrízica e identificar la especie de HMA involucrada en la simbiosis (León, 2006); ya que para algunas especies, la producción de esporas solo ocurre después de que un nivel umbral de colonización es alcanzado (León, 2006; Carosio, 2017).

La estrategia más exitosa desarrollada por los HMA para colonizar nuevos hospederos, consiste en desplegar una red de micelio extraradical compleja que comunica las diferentes plantas del ecosistema. La colonización tiende a realizarse en primer lugar por la red de micelio ya establecida, y en segundo lugar por la germinación de esporas (Agrios, 2005; León, 2006). La ventaja de establecer la red, es que ésta le permite al hongo permanecer unido a más de un hospedero, aumentando su supervivencia. Si el hongo opta por producir inicialmente esporas, cada propágulo tendrá una oportunidad de encontrar un hospedero, no siendo ésta la estrategia más efectiva (León, 2006; Peña-Venegas *et al.*, 2006).

La formación de esporas puede comenzar muy pronto, entre las primeras tres a cuatro semanas, o demorar hasta seis meses dependiendo de las especies. La esporulación fúngica es un proceso dinámico, mientras algunas se forman otras están germinando (Saparratt *et al.*, 2020). Sin embargo, el tiempo y la extensión de la esporulación pueden ser afectados por la capacidad de cada especie para producir esporas, la planta hospedera, el tipo de suelo y las condiciones medioambientales (Sieverding, 1991; Peterson *et al.*, 2004; León, 2006; Sagadin *et al.*, 2018).

Adicionalmente, algunas cepas de HMA son fisiológicamente activas en ciertas épocas del año para realizar la esporulación (Pringle y Bever, 2002; Brundrett y Ashwath, 2013); por lo que la época y las condiciones del muestreo pueden contribuir en las variaciones registradas en el número de esporas en el sustrato (León, 2006; Carosio, 2017).

## CONCLUSIONES

Las plantas de yuca cultivadas en suelos micorrízados y sin aplicación de residuos del agua de cultivo de *Chlorella vulgaris* (grupo control) presentaron los mayores valores de altura, grosor del cuello del tallo, número de hojas fotosintéticas, longitud del sistema radical, biomasa seca y riqueza arbuscular (%A).

La aplicación de las distintas concentraciones de los residuos de agua del cultivo de *C. vulgaris* (0, 25, 50 y 100%) no afecta significativamente el grosor del cuello del tallo, longitud del sistema radical y biomasa seca de la parte aérea de las plantas micorrizadas de *Manihot esculenta*, a los 80 días de su emergencia.

La altura promedio de las plantas de yuca micorrizadas, a partir del día 15 de experimentación, disminuye a medida que aumenta la concentración de residuos del agua de cultivo de *C. vulgaris* aplicada al sustrato.

La infección micorrízica del sistema radical a los 80 días de emergencia de *M. esculenta* de manera general, no varía significativamente con los cambios de las condiciones de cultivo especificadas para el tratamiento designado.

Las cepas nativas de HMA son altamente infectivas y colonizan el 100% del sistema radical de las plantas de yuca sometidas a todos los tratamientos.

La esporulación de los HMA nativos presentes en la rizosfera de *M. esculenta* no es afectada por la concentración de residuos del agua de cultivo de microalgas aplicados al sustrato.

Los residuos del agua de cultivo de *C. vulgaris* están cargados de nutrientes que alteran la efectividad de la simbiosis micorrízica, afectando de forma negativa el crecimiento y desarrollo de las plantas de yuca, bajo las condiciones establecidas en este ensayo.

El uso de las distintas concentraciones de residuos del agua de cultivo de *C. vulgaris* no es un buen acompañante de los HMA nativos en la fertilización de los suelos del estado Sucre que serán empleados para el cultivo de *M. esculenta*.

## RECOMENDACIONES

Transplantar los ejemplares micorrizados de *Manihot esculenta* a envases de mayor capacidad o en el campo, a los 80 días después de la emergencia de las plantas, con el propósito de extender el tiempo de experimentación.

Se sugiere realizar el análisis fisicoquímico de los residuos del agua de cultivo de microalgas, luego de separar la biomasa, que permita la identificación de los nutrientes que perturban la efectividad de la simbiosis micorrízica.

Comparar los resultados de este bioensayo con trabajos donde se apliquen distintas concentraciones de la biomasa y los residuos del agua de cultivo de *C. vulgaris* (0, 25, 50 y 100%) combinadas con la inoculación de los HMA nativos evaluados en este estudio y cepas micorrízicas comerciales compatibles con la especie vegetal.

Identificar taxonómicamente las especies fúngicas presentes en el pool de HMA nativos inoculados en el sustrato, mediante el uso de las características morfológicas de las esporas y las técnicas moleculares disponibles en la actualidad, para entender la relación entre la diversidad genética, morfológica y funcional de estas especies involucradas en la simbiosis micorrízica.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abbott, L. y Gazez, C. 1994. An ecological view of the formation of VA mycorrhizas. *Plant Soil*, 159: 69-78.
- Abdel-Raouf, N.; Al-Homaidan, A. e Ibraheem, I. 2012. Microalgae and wastewater treatment. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 19: 257-275.
- Agrios, G. 2005. *Plant pathology*. Quinta edición. Editorial Academic Press. California, USA.
- Agüero-Fernández, Y.; Hernández-Montiel, L.; Nieto-Garibay, A.; Troyo-Diéguéz, E.; Zulueta-Rodríguez, R. y Murillo-Amador, B. 2016. Hongos micorrízicos arbusculares como agentes mitigadores del estrés salino por NaCl en plántulas de albahaca. *Nova Scientia*, 8(17): 60-86.
- Aguilar, E.; Segreda, A.; Saborío, D.; Morales, J.; Chacón, M.; Rodríguez, L.; Acuña, P.; Torres, S. y Gómez, Y. 2016. *El cultivo de la yuca (Manihot esculenta Crantz) en Costa Rica*. Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria (INTA). San José, Costa Rica.
- Aguilar-Ulloa, W.; Arce-Acuña, P.; Galiano-Murillo, F. y Torres-Cruz, T. 2016. Aislamiento de esporas y evaluación de métodos de inoculación en la producción de micorrizas en cultivos trampa. *Tecnología en Marcha, Edición Especial Biocontrol*: 5-14.
- Aguilera, L.; Olalde, V.; Arriaga, R. y Contreras, R. 2007. Micorrizas arbusculares. *Ciencia Ergo Sum*, 14(3): 300-306.
- Aguilera, M. 2012. *La yuca en el Caribe colombiano*. De cultivo ancestral a agroindustrial. Economía Regional 158, Banco de la República. Bogotá, Colombia.
- Aguinaga, M. 2019. Inoculación de hongos micorrízicos arbusculares en *Amaranthus* sp. y su efecto en la biorremediación de suelo contaminado con plomo. Trabajo de grado. Departamento Académico de Microbiología y Parasitología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo. Lambayeque, Perú.
- Alarcón, A. y Ferrera, R. 1999. Manejo de la micorriza arbuscular en sistemas de propagación de plantas frutícolas. *Terra Latinoamericana*, 17(3): 179-191.
- Álvaro, G. 2020. “El sodio y su importancia en el crecimiento vegetal”. “Fertibox. Análisis agrícola”. <<https://www.fertibox.net/single-post/salinidad>>. (20-11-2021).
- Amaya, S. (ed). 1991. *CIAT report/Informe CIAT 1991*. CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical). Cali, Colombia.
- Angers, D. y Caron, J. 1998. Plant-induced changes in soil structure: processes and feedbacks. *Biogeochemistry*, 42: 55-72.
- Arcos, A. 2004. *Distribución de la asociación micorrízica arbuscular en ecosistemas*

- naturales e intervenidos*. Aspectos ambientales para el ordenamiento territorial del Trapecio Amazónico. Instituto Geográfico Agustín Codazzi (IGAC). Bogotá, Colombia.
- Arismendi, L. 2001. Investigación sobre el cultivo de la yuca (*Manihot esculenta* Crantz.) en el Oriente de Venezuela. *Revista UDO Agrícola*, 1(1): 1-10.
- Aristizábal, J.; Sánchez, T. y Mejía, L. 2007. *Guía técnica para producción y análisis de almidón de yuca*. Boletín de servicios agrícolas de la FAO 163. Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación. Roma, Italia.
- Arredondo-Vega, B. y Voltolina, D. (eds). 2007. *Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal*. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. La Paz, B.C.S. Ciudad de México, México.
- Azcón, A. y Barea, J. 1980. Avances recientes en el estudio de las micorrizas arbusculares: factores que afectan su formación, función y aplicaciones prácticas en la agricultura. *Manuales de edafología*, 43: 3-4.
- Azcón-Aguilar, C. y Barea, J. 1996. Arbuscular mycorrhizas and biological control of soil-borne plant pathogens an overview of the mechanisms involved. *Mycorrhiza*, 6: 457-464.
- Azcón-Bieto, J. y Talón, M. 2013. *Fundamentos de fisiología vegetal*. Editorial McGrawHill/Interamericana. Barcelona, España.
- Bago, B. 2000. Putative sites for nutrient uptake in arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil*, 226: 263-274.
- 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.
- Balagopalan, C.; Padmaja, G.; Nanda, S. y Moorthy, S. 1998. *Cassava in food, feed and industry*. CRC Press. Boca Ratón, USA.
- 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 biocontrol of soil-borne fungal plant pathogens. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(6): 2304-2307.
- Barrer, S. 2009. El uso de hongos micorrízicos arbusculares como una alternativa para la agricultura. *Facultad de Ciencias Agropecuarias*, 7(1): 123-132.
- Barrera, J.; Combatt, E. y Ramírez, Y. 2011. Efecto de abonos orgánicos sobre el crecimiento y producción del plátano Hartón (*Musa AAB*). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 5(2): 186-194.
- Barrera, J.; Cruz, M. y Melgarejo, L. 2010. V. Nutrición mineral. En: *Experimentos en fisiología vegetal*. Melgarejo, L. (ed). Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia. Págs. 79-106.

- Bashan, Y. y Holguin, G. 1998. Proposal for the division of plant growth- promoting rhizobacteria into two classifications: biocontrol PGPR (plant growth-promoting bacteria) and PGPR. *Soil Biology and Biochemistry*, 30: 1225-1228.
- Begoude, D.; Sarr, P.; Mpon, T.; Owona, D.; Kapeua, M. y Araki, S. 2016. Composition of arbuscular mycorrhizal fungi associated with cassava (*Manihot esculenta* Crantz) cultivars as influenced by chemical fertilization and tillage in Cameroon. *Journal of Applied Biosciences*, 98: 9270-9283. DOI: 10.4314/jab.v98i1.4.
- Bernal, A.; Hernández, A.; Mesa, M.; Rodríguez, O.; González, P. y Reyes, R. 2015. Características de los suelos y sus factores limitantes de la región de Murgas, provincia la Habana. *Cultivos Tropicales*, 36(2): 30-40.
- 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.
- Bizzozero, F. 2006. *Biofertilizantes nutriendo cultivos sanos*. Centro Uruguayo de Tecnologías Apropriadas. Montevideo, Uruguay.
- Blanco, F. y Salas, E. 1997. Micorrizas en la agricultura: contexto mundial e investigación realizada en Costa Rica. *Agronomía Costarricense*, 21(1): 55-67.
- Brennan, L. y Owende, P. 2010. Biofuels from microalgae-A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14: 557-577.
- Brundrett, M. y Ashwath, N. 2013. Glomeromycotan mycorrhizal fungi from tropical Australia III. Measuring diversity in natural and disturbed habitats. *Plant and Soil*, 370: 419-433.
- Cabezas, M. y Sánchez, C. 2008. Efecto de las deficiencias nutricionales en la distribución de la materia seca en plantas de vivero de curuba (*Passiflora mollissima* Bailey). *Agronomía Colombiana*, 26: 197-204.
- Cadavid, F. 2011. *Manual de nutrición vegetal: una visión de los aspectos nutricionales del cultivo de la yuca (Manihot esculenta Crantz)*. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Cali, Colombia.
- Calderón, L.; Gómez, L.; Blanco, F. y Uribe, L. 2000. La inoculación con *Glomus manihotis* sobre el crecimiento y desarrollo de plantas de yuca producidas *in vitro*, en la fase de aclimatación. *Agronomía Costarricense*, 24(2): 25-29.
- Camarena-Gutiérrez, G. 2012. Interacción planta-hongos micorrízicos arbusculares. *Revista Chapingo, Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 18(3): 409-421.
- Camargo-Ricalde, S.; Montaña, N.; De la Rosa-Mera, C. y Montaña-Arias, S. 2012. Micorrizas: una gran unión abajo del suelo. *Revista Digital Universitaria*, 13(7): 1-19.
- Camejo, M. 2016; Efecto de dosis de nitrógeno, fósforo y potasio combinadas con micorrizas en yuca (*Manihot esculenta* Crantz). Tesis de maestría. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas. Santa

Clara, Cuba.

- Campos, A. 1994. Evaluación de *Rhizobium* sp. y *Bradyrhizobium* sp. en fríjol (*Vigna unguiculata* L. Walp) nativos de diferentes áreas de producción del Estado Monagas y evaluación de desinfección del suelo. Trabajo para ascender a la categoría de Profesor Asociado. Escuela de Ingeniería Agronómica, Universidad de Oriente. Maturín, Venezuela.
- Carosio, M. 2017. Relación de los hongos formadores de micorrizas respecto de las variables fisicoquímicas de suelos de Mendoza cultivados con tomate para industria. Trabajo de grado. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza, Argentina.
- Carretero, C. 2002. Tolerancia a la salinidad de plantas de mandioca (*Manihot esculenta* Cranz): influencia de la micorriza. Tesis doctoral. Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla, Departamento de Cristalografía, Mineralogía y Química Agrícola, Universidad de Sevilla. Sevilla, España.
- Carretero, C.; Cantos, M.; García, J.; Azcón, R. y Troncoso, A. 2009. Growth responses of micropropagated cassava clones as affected by *Glomus intraradices* colonization. *Journal of Plant Nutrition*, 32(2): 261-273. DOI: 10.1080/01904160802608601.
- Castillo, C.; Ortiz, C.; Borie, F. y Rubio, R. 2009. Respuesta de ají (*Capsicum annum* L.) cv. "Cacho de Cabra" a la inoculación con hongos micorrízicos arbusculares. *Revista Información Tecnológica*, 20(4): 3-14.
- Castillo, N. 1987. *Una introducción al estudio del suelo y de los fertilizantes*. Editorial América C.A. Caracas, Venezuela.
- Ceballos, H. y De La Cruz, G. 2002. Taxonomía y morfología de la yuca. En: *La yuca en el tercer milenio: sistemas modernos de producción, procesamiento, utilización y comercialización*. Ospina, B. y Ceballos, H. (eds). Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Cali, Colombia. Págs. 17-33.
- Chisti, Y. 2007. Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*, 25(3): 294-306.
- Cuadros, G.; Gómez, R. y Rodríguez, N. 2011. Asociación simbiótica entre hongos micorrízicos arbusculares y el sistema radicular de plántulas de cacao (*Theobroma cacao* L.): efecto de la formononetina y la disponibilidad de fósforo en el suelo. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 12(1): 77-85.
- Cuenca, G.; De Andrade, Z.; Lovera, M.; Fajardo, L. y Meneses, E. 2004. The effect of two arbuscular micorrizal inocula of contrasting richness and the same micorrizal potential on the growth and survival of wild plant species from La Gran Sabana, Venezuela. *Canadian Journal of Botany*, 82: 582-589.
- DANE (Departamento Administrativo Nacional de Estadística). 2004. *Censo de plantas procesadoras de yuca para uso industrial*. Ministerio de Agricultura y Desarrollo rural. Bogotá, Colombia. Recuperado de <http://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuario/ena/censoyucaindustrial.pdf>.

- Dannowski, M. y Werner, A. 1997. The important of plant roots for ecological assessment of soil structure in laboratory and in the landscape. *Australian Journal Agricultura Research*, 48(2): 73-88.
- Demirbas, A. 2009. Production of biodiesel from algae oils. *Energy sources part A: Recovery, Utilization y Environmental, Effects*, 31(2): 163-168.
- Diederichs, C. y Moawad, A. 1993. The potential of VA mycorrhizae for plant nutrition in the tropics. *Angewandte Botanik*, 67: 91-96.
- Dodd, J.; Arias, I.; Koomen, I. y Hayman, D. 1990. The management of populations of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi in acid-infertile soils of a savanna ecosystem. *Plant and Soil*, 122: 229-240.
- Dodd, M.; Janson, S.; Facione, N.; Faucett, J.; Froelicher, E.; Humphreys, J.; Lee, K.; Miaskowski, C.; Puntillo, K.; Rankin, S. y Taylor D. 2001. Advancing the science of symptom management. *Journal of Advanced Nursing*, 33(5): 668-676.
- Dussán, C.; Villegas, D. y Miranda, D. 2015. Análisis de crecimiento de árboles de guayaba (*Psidium guajava* L.) var. ICA Palmira II sometidos a deficiencia de N, P, K, Mg, Ca y B en fase de vivero. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 9(2): 209-221. DOI: 10.17584/rcch.2015v9i2.4176.
- Faheed, F. y Abd-El Fattah, Z. 2008. Effect of *Chlorella vulgaris* as bio-fertilizer on growth parameters and metabolic aspects of lettuce plant. *Journal of Agriculture and Social Sciences*, 4: 165-69.
- FAO (Organización de Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). 2016. *Perspectivas alimentarias*. Resúmenes de mercado. Editorial de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, Italia.
- FAO (Organización de Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación) y FIDA (Fondo Internacional de Desarrollo Agrícola). 2000. *La economía mundial de la yuca: hechos, tendencias y perspectivas*. Editorial de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, Italia.
- Filho, A. y Nogueira, M. 2007. *Microbiota de solo e qualidade ambiental*. Instituto Aronómico. Campinas, Brasil.
- Franken, P.; Donges, K.; Grunwald, U.; Kost, G.; Rexer, H.; Tamasloukh, M.; Waschke, A. y Zeuske, D. 2007. Gene expression analysis of arbuscule development and functioning Phytochem. *New Phytologist*, 68: 68-74.
- García, J. 2020. Efecto de la materia orgánica, yeso y dolomita en la concentración de aluminio ( $Al^{+3}$ ) en suelos con cultivo de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Trabajo de grado. Facultad de Recursos Naturales Renovables, Universidad Nacional Agraria de la Selva. Tingo María, Perú.
- 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.

- Garrido, S. 1994. *Interpretación de análisis de suelos*. Guía práctica para muestrear los suelos e interpretar su análisis. Getafe. Madrid, España.
- Gerdemann, J. 1975. Vesicular-arbuscular mycorrhizae. En: *The development and function of roots*. Torrey, J. y Clarkson, D. (eds). Academic Press. New York, USA. Págs. 575-591.
- Gerdemann, J. y Nicolson, T. 1963. Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet-sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society*, 73: 261-270.
- Gianinazzi, S.; Gianinazzi-Pearson, V. y Dexheimer, J. 1979. Enzymatic studies on the metabolism of vesicular arbuscular mycorrhiza. III. Ultrastructural localization of acid and alkaline phosphatase in onion roots infected by *Glomus mosseae* (Nicol. and Gerd.). *New Phytologist*, 82: 127-132.
- Gierth, M. y Mäser, P. 2007. Potassium transporters in plants - involvement in K<sup>+</sup> acquisition, redistribution and homeostasis. *FEBS Letters*, New York, 581(19): 2348-2356.
- Grageda-Cabrera, O.; Díaz-Franco, A.; Peña-Cabriales, J. y Vera-Nuñez, J. 2012. Impacto de los biofertilizantes en la agricultura. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 3(6): 1261-1274.
- Guerra, B. 2008. Micorriza arbuscular. Recurso microbiológico en la agricultura sostenible. *Tecnología en Marcha*, 21(1): 191-201.
- Harley, J. y Smith, S. 1983. *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press Inc. London, United Kingdom.
- Harris, C.; Esqueda, M.; Valenzuela, E. y Castellanos, A. 2009. Tolerancia al estrés hídrico en la interacción planta-hongo micorrízico arbuscular: metabolismo energético y fisiología. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 32(4): 265-271.
- Heberle, E.; Armas, R.; Heberle, D.; Stürmer, S.; Peruch, L.; Lovato, P. y Soares, C. 2015. Occurrence and structure of arbuscular mycorrhizal fungal communities in cassava after cultivation of cover crops as observed by the “PCR-DGGE” technique. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 39(5): 1292-1301. Doi: 10.1590/01000683rbc20140216.
- Hernández-Pérez, A. y Labbé, J. 2014. Microalgas, cultivo y beneficios. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 49(2): 157-173.
- Honrubia, M. 2009. Las micorrizas: una relación planta-hongo que dura más de 400 millones de años. *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, 66(1): 133-144.
- Howeler, R. 2014. *Sustainable soil and crop management of cassava in Asia*. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Cali, Colombia.
- Howeler, R. y Sieverding, E. 1982. *La importancia de las micorrizas en la absorción de fósforo por la yuca*. XII Congreso Colombiano de la Ciencia del Suelo Ecuatoriales. Palmira, Colombia. Págs. 182-194.

- Ildermaro, J.; Ramírez, M.; Petit, B.; Colmenares, C. y Parra, I. 2017. Efecto de hongos micorrízicos arbusculares y estiércol de bovino en el crecimiento de *Capsicum frutescens* L. *Bioagro*, 29(2): 137-144.
- Janos, D. 1980. Mycorrhizae influence tropical succession. *Biotropica Supplement*, 12: 56-64.
- João, J.; Espinosa, A.; Ruiz, S.; González, J. y Rivera, R. 2016. Efectividad de cepas de HMA en el cultivo de la yuca (*Manihot esculenta* Crantz) en dos tipos de suelos. *Cultivos Tropicales*, 37(1): 48-56.
- Kapoor, R.; Sharma, D. y Bhatnagar, A. 2008. Arbuscular mycorrhizae in micropropagation systems and their potential applications. *Scientia Horticulturae*, 116: 227-239.
- Kass, D. 1996. *Fertilidad de suelos*. Editorial EUNED. San José, Costa Rica.
- King, A.; Congreves, K.; Deen, B.; Dunfield, K.; Voroney, R. y Wagner-Riddle, C. 2019. Quantifying the relationships between soil fraction mass, fraction carbon, and total soil carbon to assess mechanisms of physical protection. *Soil Biology and Biochemistry*, 135: 95-107.
- Kloepper, J.; Schroth, M. y Miller, T. 1980. Effects of rhizosphere colonization by plant growth-promoting rhizobacteria on potato plant development and yield. *Phytopathology*, 70: 1078-1082.
- Kuwada, K.; Wamocho, L.; Utamura, M.; Matsushita, I. y Ishii, T. 2006. Effect of red and green algal extracts on hyphal growth of arbuscular mycorrhizal fungi, and on mycorrhizal development and growth of papaya and passion fruit. *Agronomy Journal*, 98: 1340-1344.
- León, D. 2006. Evaluación y caracterización de micorrizas arbusculares asociadas a yuca (*Manihot esculenta* sp.) en dos regiones de la Amazonía colombiana. Trabajo de grado. Escuela de Microbiología Agrícola y Veterinaria, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia.
- 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.
- López, M. y Estrada, H. 2015. Propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo. *Bioagrocencias*, 8(1): 3-11.
- Lovera, M. 2004. Ecología y distribución: Hacia una biogeografía de los hongos micorrízicos-arbusculares. Tesis doctoral. Postgrado en Ecología, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC). Caracas, Venezuela.
- Lozano, J.; Toro, J.; Castro, A. y Bellatti, A. 1977. *Producción de material de yuca*. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) . Cali, Colombia.
- Lucy, M.; Reed, E. y Glick, B. 2004. Applications of free living plant growth-promoting rhizobacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 86: 1-25.

- Lugo, M. 2021. Evaluación de micorrizas arbusculares asociadas a tres especies frutales en la hacienda Agua Fría, municipio Arismendí, estado Sucre. Trabajo de grado. Departamento de Biología, Universidad de Oriente. Cumaná, Venezuela.
- Marcano, R. 2012. Evaluación de micorrizas arbusculares en dos sistemas de producción agrícola y pecuario en la “Granja La Esperanza” en el sector de Tarabacoa, municipio Bolívar del estado Sucre. Trabajo de grado. Departamento de Biología, Universidad de Oriente. Cumaná, Venezuela.
- Martínez, F.; Sarmiento, J.; Fischer, G. y Jiménez, F. 2009. Síntomas de deficiencia de macronutrientes y boro en plantas de uchuva (*Physalis peruviana* L.). *Agronomía Colombiana*, 27(2): 169-178.
- Mata, T.; Antonio, A. y Martins, N. 2010. Microalgae for biodiesel production and other applications: a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(1): 217-232.
- Mederos, V. 2006. Embriogénesis somática en yuca (*Manihot esculenta* Crantz). Tesis doctoral. Centro de Bioplantas, Universidad de Ciego de Ávila. Ciego de Ávila, Cuba.
- Medina, F. 2011. Efecto de las micorrizas arbusculares y la fertilización con fósforo en el crecimiento y desarrollo de plantas de *Petroselinum sativum* Mill. Trabajo de grado. Departamento de Biología, Universidad de Oriente. Cumaná, Venezuela.
- Medina, F. 2021. Efecto de los hongos micorrízicos arbusculares nativos en el crecimiento vegetativo de tres especies vegetales. Trabajo para ascender a la categoría de Profesor Asistente. Departamento de Biología, Universidad de Oriente. Cumaná, Venezuela.
- Mejía, M. 2002. Fisiología de la yuca (*Manihot esculenta* Crantz). En: *La yuca en el tercer milenio: sistemas modernos de producción, procesamiento, utilización y comercialización*. Ospina, B. y Ceballos, H. (eds). Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Cali, Colombia. Págs. 34-46.
- Menge, J.; Johnson, E. y Minassian, V. 1979. Effect of heat treatment and three pesticides upon the growth and reproduction of the mycorrhizal fungus *Glomus fasciculatus*. *New Phytologist*, 82: 473-480.
- Miao, X. y Wu, Q. 2006. Biodiesel production from heterotrophic microalgal oil. *Bioresource Technology*, 97(6): 841-846.
- Milano, A. 2019. Efecto del vermicompost en el crecimiento vegetativo de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. cultivada en suelos inoculados con hongos micorrízicos arbusculares nativos, bajo condiciones de vivero. Trabajo de grado. Departamento de Biología, Universidad de Oriente. Cumaná, Venezuela.
- Mimbela, I. 2010. Efecto de la esterilización de suelo, la fertilización con fósforo e inoculación con micorrizas arbusculares en el crecimiento y desarrollo de plántulas de perejil (*Petroselinum sativum*) en condiciones de vivero. Trabajo para ascender a la categoría de Profesor Asistente. Departamento de Biología,

Universidad de Oriente. Cumaná, Venezuela.

- Mimbela, I. 2012. Caracterización e identificación morfológica de hongos formadores de micorriza arbuscular, del orden Glomerales, en cinco municipios del estado Sucre, Venezuela. Trabajo para ascender a la categoría de Profesor Agregado. Departamento de Biología, Universidad de Oriente. Cumaná, Venezuela.
- Mulumba, N. y Farag, I. 2012. Tubular photobioreactor for microalgae biodiesel production. *International Journal of Engineering Science and Technology*, 4(2): 703-709.
- Navarro, B. y Navarro, G. 2003. *Química agrícola: el suelo y los elementos químicos esenciales para la vida vegetal*. Segunda edición. Mundi prensa. Madrid, España.
- Okon, I.; Solomon, M. y Osonubi, O. 2010. The effects of arbuscular mycorrhizal fungal inoculation and mulch of contrasting chemical composition on the yield of cassava under humid tropical conditions. *The Scientific World Journal*, 10: 505-511. DOI: 10.1100/tsw.2010.59.
- Olivera, R.; Ramos, M. y Palacio, S. 2010. Mejoramiento de la producción del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) con el uso de alternativas de fertilización. *Revista Ciencias Holguín*, 16(2): 1-11.
- Olsen, K. y Schaal, B. 2001. Microsatellite variation in cassava (*Manihot esculenta*, Euphorbiaceae) and its wild relatives: Further evidence for a southern Amazonian origin of domestication. *American Journal of Botany*, 88(1): 131-142.
- Parada, F.; Jaén, D.; Becerril, A. y García, E. 2001. Desarrollo y calidad del portaingerto de Chicozapote (*Manihot sapota* L) inoculado con *Glomus mosseae*, aspersión de AG3 y fertilización NPK al suelo y foliar. *Terra Latinoamericana*, 19(002): 133-139.
- Paszkowski, U. 2006. A journey through signaling in arbuscularmycorrhizal symbioses. *New Phytologist*, 172(1): 35-46.
- 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. Bogotá, Colombia.
- Pérez, L.; Oviedo, L. y Barrera, J. 2018. Efecto de la micorrización y el lombriabono sobre el crecimiento y desarrollo del Sacha inchi *Plukenetia volubilis* L. *Temas Agrarios*, 23(1): 18-28.
- Pérez, U.; Ramírez, M.; Zapata, Y. y Córdoba, J. 2015. Efecto de la inoculación simple y combinada con hongos formadores de micorriza arbuscular (HFMA) y rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (BPCV) en plántulas micropropagadas de mora (*Rubus glaucus* L.). *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 16(1): 95-103.
- Pérez-Pazos, J.; Luna-Castellanos, L. y Burbano-Figueroa, O. 2018. Acumulación de

- biomasa en yuca ante la fertilización NPK y biofertilizantes. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 12(2): 456-463. DOI: <http://doi.org/10.17584/rcch.2018v12i2.7676>.
- Peterson, R.; Massicotte, H. y Melville, L. 2004. *Mycorrhizas: Anatomy and cell biology*. CABI publishing. Ottawa, Canadá.
- Phillips, J. y Hayman, D. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment to infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 55: 158-161.
- Powell, C. y Bagyaraj, D. 1984. *VA mycorrhiza*. CRC Press. Boca Ratón, USA.
- Pringle, A. y Bever, J. 2002. Divergent phenologies may facilitate the coexistence of arbuscular mycorrhizal fungi in a North Carolina grassland. *American Journal of Botany*, 89: 1439-1446.
- Pumplin, N. y Harrison, M. 2009. Live-cell imaging reveals periarbuscular membrane domains and organelle location in *Medicago truncatula* roots during arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Plant Physiology*, 151(2): 809-819.
- Quiñones-Aguilar, E.; Hernández-Acosta, E.; Rincón-Enríquez, G. y Ferrera-Cerrato, R. 2012. Interacción de hongos micorrízicos arbusculares y fertilización fosfatada en papaya. *Terra Latinoamericana*, 30: 165-176.
- Quiñones-Aguilar, E.; Trejo-Aguilar, D.; Aguas-Rendón, T.; Ferrera-Cerrato, R. y González-Chávez, M. 1998. Hongos endomicorrízicos arbusculares y diferentes sustratos en el crecimiento de plantas de papaya (*Carica papaya* L.) en vivero. En: *Avances de la investigación micorrízica en México*. Zulueta, R.; Escalona, M. y Trejo, D. (eds). Universidad Veracruzana. Xalapa, Veracruz. Págs. 126-140.
- 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.
- Reyes, I. 2011. La micorriza arbuscular (MA) centro de la rizosfera: comunidad microbiológica dinámica del suelo. *ContactoS*, 81: 17-23.
- Rhodes, C. 2009. Oil from algae; salvation from peak oil? *Science Progress*, 92(1): 39-90.
- Rillig, M. y Mummey, D. 2006. Mycorrhizas and soil structure. *New Phytologist*, 171: 41-53.
- Rivera, E.; Sánchez, M. y Domínguez, H. 2018. pH como factor de crecimiento en plantas. *Revista de Iniciación Científica*, 4: 101-105.
- Rivera, R.; Fernández, F.; Hernández, A.; Martín, J. y Fernández, K. 2003. *El manejo*

- efectivo de la simbiosis micorrízica, una vía hacia la agricultura sostenible. Estudio de caso: El Caribe. Ediciones INCA. Habana, Cuba.*
- Rivera, Y.; Galindo, T.; Caicedo, A.; Navarro, E. y Romero, H. 2014. *Hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) en palma de aceite. Boletín técnico 35. Cenipalma. Bogotá, Colombia.*
- Rivera-Cruz, M.; Trujillo-Narcía, A. y Alejo-Pereyra, D. 2010. Los biofertilizantes integrados con bacterias fijadoras de N, solubilizadoras de P y sustratos orgánicos en el crecimiento de naranjo agrio *Citrus aurantium* L. *Interciencia*, 35(2): 113-119.
- Rodríguez, A.; Saborío, D.; Aguilar, E.; Morales, J.; Chacón, M.; Rodríguez, L.; Acuña, P.; Torres, S. y Bonilla, Y. 2016. Cultivo de yuca *Manihot esculenta* Crantz. Innovación para la seguridad alimentaria y nutricional en Centroamérica y Panamá, Programa Regional de Investigación e Innovación por Cadenas de Valor Agrícola, Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria. San José, Costa Rica.
- Ruíz, P.; Rojas, K. y Sieverding, E. 2011. La distribución geográfica de los hongos de micorriza arbuscular: una prioridad de investigación en la Amazonía peruana. *Espacio y Desarrollo*, 23: 47-63.
- Sagadin, M.; Monteoliva, M.; Luna, C. y Cabello, M. 2018. Diversidad e infectividad de hongos micorrícicos arbusculares nativos provenientes de algarrobales del Parque Chaqueño argentino con características edafoclimáticas contrastantes. *Agriscientia*, 35(2): 19-33.
- Salazar-García, S. 2002. *Las micorrizas pueden mejorar la nutrición del árbol. Nutrición del aguacate: principios y aplicaciones. INIFAP-INPOFEOS. México, D. F., México.*
- Saldaña, M.; Gómez, R.; Rivera, M.; Álvarez, J.; Ortiz, C. y Pat, J. 2014. Efecto de abonos orgánicos en la dinámica microbiológica del suelo y producción de *Alpinia purpurata* (Vieill) K. Schum. *Interciencia*, 39(11): 809-815.
- Sánchez, M.; Posada, R.; Velásquez, D. y Narváez, M. 2010. *Metodologías básicas para el trabajo con micorriza arbuscular y hongos formadores de micorriza arbuscular. Universidad Nacional de Colombia. Palmira, Colombia.*
- Sanders, I.; Clapp, J. y Wiemken, A. 1996. The genetic diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in natural ecosystems- A key to understanding the ecology and functioning of the mycorrhizal symbiosis. *New Phytologist, Elsevier*, 133: 125-129.
- Saparrat, M.; Bernardo, V.; Ruscitti, M.; Elíades, L. y Balatti, P. 2020. Capítulo 3. Hongos rizosféricos y el movimiento del fósforo en el suelo. En: *Micorrizas arbusculares, biología y aplicaciones en el sector agro-forestal*. Saparrat, M.; Ruscitti, M. y Arango, M. (eds). Editorial de la Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Buenos Aires, Argentina. Págs. 52-63.

- Seremesic, S.; Ćirić, V.; Milošev, D.; Vasin, J. y Djalovic, I. 2017. Changes in soil carbon stock under the wheat-based cropping systems at Vojvodina province of Serbia. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 63: 388-402.
- Séry, D.; Kouadjo, Z.; Voko, B. y Zézé, A. 2016. Selecting native arbuscular mycorrhizal fungi to promote cassava growth and increase yield under field conditions. *Frontiers in Microbiology*, 7: 2063. DOI: 10.3389/fmicb.2016.02063.
- Siddiqui, Z. y Akhtar, M. 2008. Synergistic effects of antagonistic fungi and a plant growth promoting rhizobacterium, an arbuscular mycorrhizal fungus, or composted cow manure on populations of *Meloidogyne incognita* and growth of tomato. *Biocontrol Science and Technology*, 18(3): 279-290.
- Sieverding, E. 1991. *Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems*. Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (GTZ). Eschbom, Germany.
- Sieverding, E. y Howeler, R. 1985. Influence of species of VA mycorrhizal fungi on cassava yield response to phosphorus fertilization. *Plant Soil*, 88: 213-221.
- Simon, L.; Bousquet, R.; Levesque, C. y Lalonde, M. 1993. Origin and diversification of endomycorrhizal fungi and coincidence with vascular land plants. *Nature*, 363: 67-69.
- Siqueira, J. y Franco, A. 1988. *Bioteconología do solo*. Fundamentos e Perspectiva. MEC-ESALFAEPE-ABEAS. Brasília, Brasil.
- Smith, G. 1988. The role of phosphorus-nutrition in interactions of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi with soilborne nematodes and fungi. *Phytopathology*, 78: 371-374.
- Smith, S. y Read, D. 2009. *Mycorrhizal symbiosis*. Third edition. Academic Press. Cambridge, Gran Bretaña.
- Spolaore, P.; Joannis-Cassan, C.; Duran, E. y Isambert, A. 2006. Commercial applications of microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 101: 87-96.
- Stahl, D.; Willians, S. y Christensen, M. 1988. Efficacy of native vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi after severe soil disturbance. *New Phytologist*, 110: 347-354.
- Straker, C.; Hilditch, A. y Rey, M. 2010. Arbuscular mycorrhizal fungi associated with cassava (*Manihot esculenta* Crantz) in South Africa. *South African Journal of Botany*, 76(1): 102-111. DOI: 10.1016/j.sajb.2009.09.005.
- 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.
- Suárez, L. y Mederos, V. 2011. Apuntes sobre el cultivo de la yuca (*Manihot esculenta* Crantz). Tendencias actuales. Revisión bibliográfica. *Cultivos Tropicales*, 32(3): 27-35.

- Taylor, J.; Waltenbaugh, A. y Shields, M. 2008. Impact of vesicular arbuscular mycorrhiza on root anatomy in *Zea mays* and *Lycopersicon esculentum*. *African Journal of Agricultural Research*, 3(1): 001-006.
- Thomson, B.; Robson, A. y Abbott, L. 1991. Soil mediated effects of phosphorus supply on the formation of mycorrhizas by *Scutellispora calospora* (Nicol. & Gerd.) Walker & Sanders on subterranean clover. *New Phytologist*, 118: 463-469.
- Toledo, M. 2016. *Manejo de suelos ácidos de las zonas altas de Honduras: conceptos y métodos*. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA). Tegucigalpa, Honduras.
- Torres-Guerrero, C.; Etchevers, J.; Fuentes-Ponce, M.; Govaerts, B.; De León-González, F. y Herrera, J. 2013. Influencia de las raíces sobre la agregación del suelo. *Terra Latinoamericana*, 31(1): 71-84.
- Trouvelot, A.; Kough, J. y Gianinazzi-Pearson, V. 1986. Mesure du taux de mycorrhization VA d'un système racinaire. Recherche de methods d'estimation ayant une signification fonctionnelle. En: *Physiological and genetical aspects of mycorrhiza*. Gianinazzi-Pearson, V. y Gianinazzi, S. (eds). Editorial INRA. Paris, Francia. Págs. 101-109.
- Valencia, C. y Zúñiga, D. 2015. Análisis de la presencia natural de micorrizas en cultivos de algodón (*Gossypium barbadense* L.) inoculados con *Bacillus megaterium* y/o *Bradyrhizobium yuanmingense*. *Ecología aplicada*, 14(1): 65-69.
- Van der Heijden, M. 2002. Arbuscular mycorrhizal fungi as a determinant of plant diversity: in search of underlying mechanisms and general principles. *Ecological Studies*, 157: 243-265.
- Velandia, D. 2006. Evaluación y caracterización de micorrizas arbusculares asociadas a yuca (*Manihot esculenta* sp.) en dos regiones de la Amazonía colombiana. Trabajo de grado. Facultad de Ciencias, Microbiología Agrícola y Veterinaria, Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia.
- Velasco, J.; Ferrera, R. y Suarez, A. 2001. Vermicomposta, micorriza arbuscular y *Azospirillum brasilense* en tomate de cascara. *Terra Latinoamericana*, 19(3): 22-54.
- Vila, O. 2012. *Diagnóstico de la cadena de la yuca en Colombia*. Generalidades y situación actual del cultivo de la yuca en Colombia. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR). Bogotá, Colombia.
- Wheatley, C. 1991. Calidad de las raíces de yuca y factores que intervienen en ella. En: *Mejoramiento genético de la yuca en América Latina*. Hershey, C. (ed). Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD). Cali, Colombia. Págs. 267-291.
- Wilcox, H. 1996. Micorrhizae. En: *Plant root*. Waisel, Y.; Eshel, A. y Kafkafi, U. (eds). Segunda edición. Editorial Mercel Dekker. Nueva York, USA. Págs. 689-721.

Yeasmin, T.; Zaman, P.; Rahman, A.; Absar, N. y Saba, N. 2007. Arbuscular mycorrhizal fungus inoculum production in rice plants. *African Journal of Agricultural Research*, 2(9): 463-467.

## APÉNDICES

Apéndice 1. Análisis *a posteriori* (Duncan 95%) aplicado a la altura de las plantas de *Manihot esculenta*, cultivadas en suelos inoculados con HMA nativos y fertilizados con distintas concentraciones de residuos del agua de cultivo de *Chlorella vulgaris* (0, 25, 50 y 100%), a los 30 días de aplicación del tratamiento.

<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos homogéneos</i>
0%	7	9,844	a
25%	5	8,796	ab
50%	7	8,524	ab
100%	8	6,692	b

Apéndice 2. Análisis *a posteriori* (Duncan 95%) aplicado a la altura de las plantas de *Manihot esculenta*, cultivadas en suelos inoculados con HMA nativos y fertilizados con distintas concentraciones de residuos del agua de cultivo de *Chlorella vulgaris* (0, 25, 50 y 100%), a los 45 días de aplicación del tratamiento.

<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos homogéneos</i>
0%	7	10,20	a
25%	4	9,48	a
50%	6	8,32	ab
100%	8	6,51	b

Apéndice 3. Análisis *a posteriori* (Duncan 95%) aplicado a la altura de las plantas de *Manihot esculenta*, cultivadas en suelos inoculados con HMA nativos y fertilizados con distintas concentraciones de residuos del agua de cultivo de *Chlorella vulgaris* (0, 25, 50 y 100%), a los 60 días de aplicación del tratamiento.

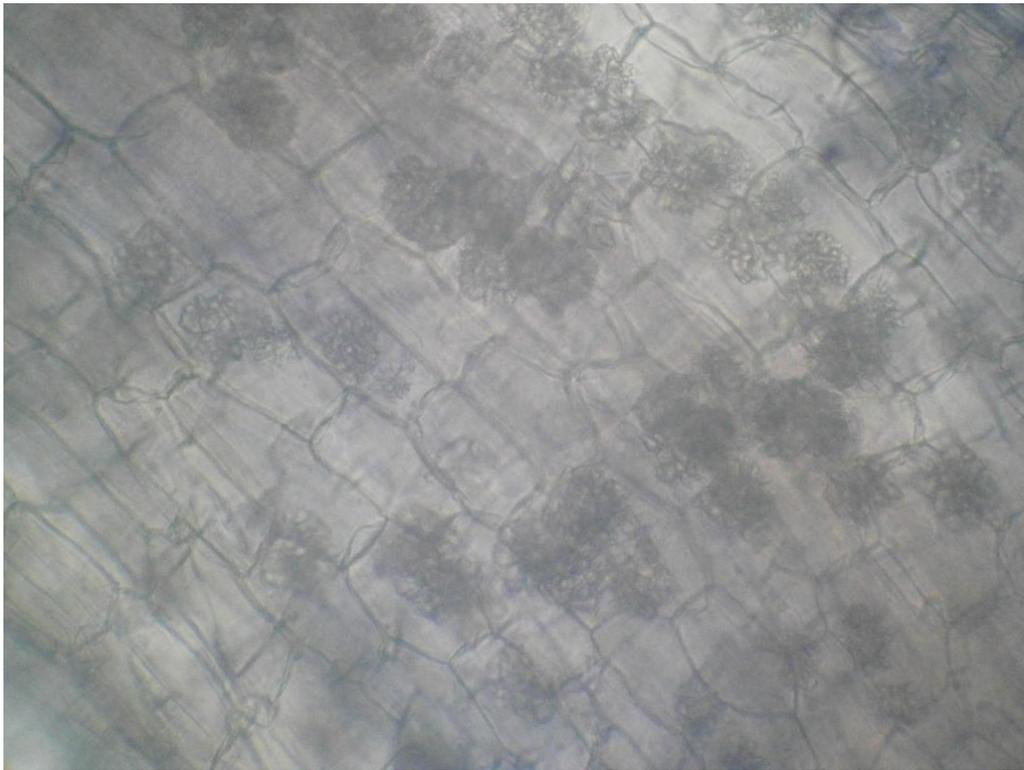
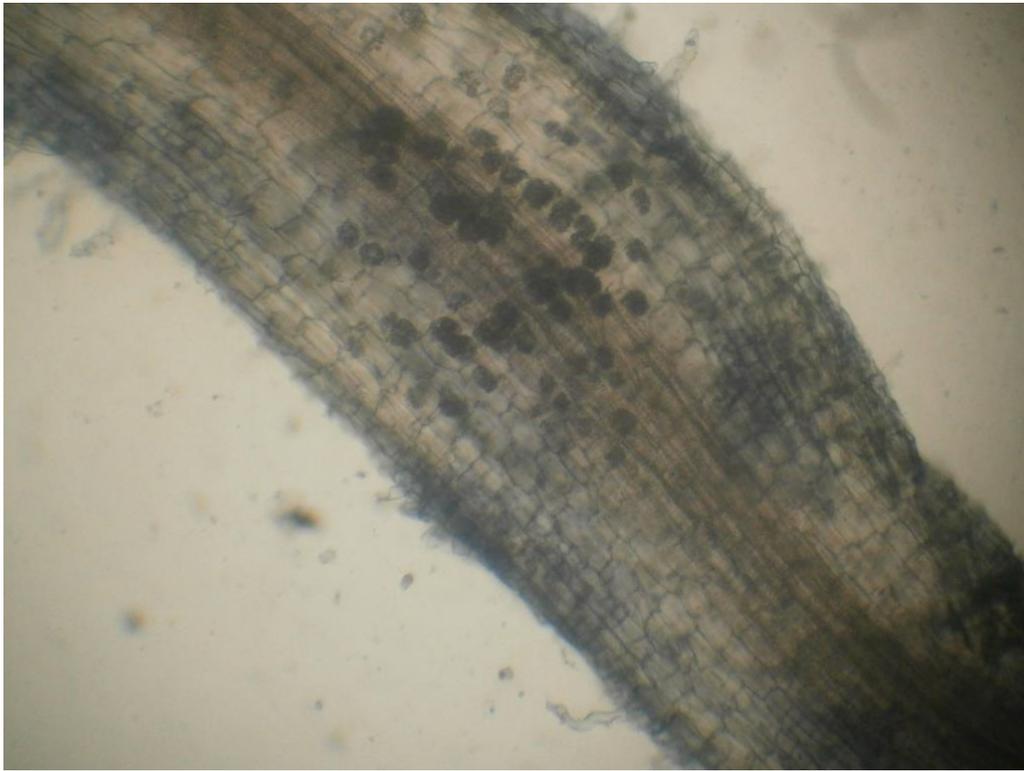
<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos homogéneos</i>
0%	7	10,5514	a
25%	4	9,7038	a
50%	9	8,3125	ab
100%	6	5,7511	b

Apéndice 4. Análisis *a posteriori* (Duncan 95%) aplicado a la altura de las plantas de *Manihot esculenta*, cultivadas en suelos inoculados con HMA nativos y fertilizados con distintas concentraciones de residuos del agua de cultivo de *Chlorella vulgaris* (0, 25, 50 y 100%), a los 70 días de aplicación del tratamiento.

<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos homogéneos</i>
0%	7	11,6657	a
25%	4	10,6875	a
50%	7	9,8207	a
100%	9	7,2656	b

Apéndice 5. Análisis *a posteriori* (Duncan 95%) aplicado al número de hojas fotosintéticas de las plantas de *Manihot esculenta*, cultivadas en suelos inoculados con HMA nativos y fertilizados con distintas concentraciones de residuos del agua de cultivo de *Chlorella vulgaris* (0, 25, 50 y 100%), a los 15 días de aplicación del tratamiento.

<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos homogéneos</i>
0%	9	4,11111	a
50%	9	3,66667	ab
25%	7	3,28571	ab
100%	9	2,88889	b



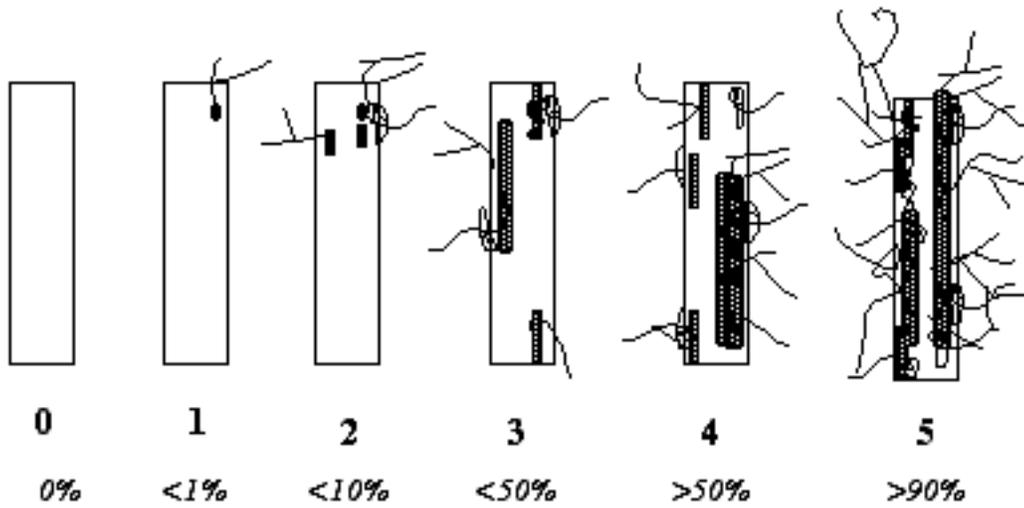
Apéndice 6. Raíces de *Manihot esculenta* teñidas con azul de tripano al 0,05% donde se evidencia la formación de arbusculos.



Apéndice 7. Raíz de *Manihot esculenta* teñida con azul de tripano al 0,05% sin evidencia de colonización micorrízica.

## ANEXOS

### SCORING MYCORRHIZAL COLONIZATION IN CLASSES FROM 0 TO 5



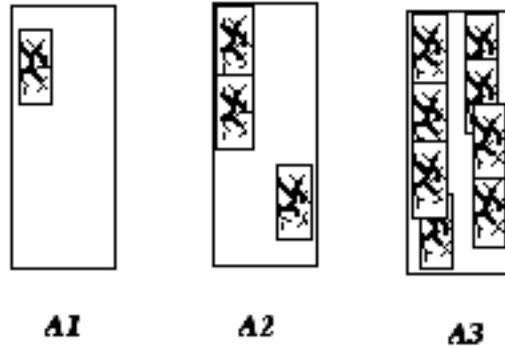
### SCORING ARBUSCULE ABUNDANCE

*None* : A0

*Few arbuscules* : A1

*Frequent* : A2

*Abundant* : A3



Anexo 1. Estimación de la infección micorrízica y abundancia arbuscular según Trouvelot *et al.* (1986).

## HOJA DE METADATOS

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

<b>Título</b>	EFFECTO DE LA INOCULACIÓN MICORRÍZICA Y RESIDUOS DE MICROALGAS ( <i>Chlorella vulgaris</i> Beyerinck) EN EL CRECIMIENTO Y DESARROLLO DE <i>Manihot esculenta</i> Cranz
<b>Subtítulo</b>	

**Autor (es):**

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
Acuña A. Beda M.	<b>CVLAC</b>	23 806 625
	<b>e-mail</b>	<i>adebaa905@gmail.com</i>
	<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>	
	<b>CVLAC</b>	
	<b>e-mail</b>	
	<b>e-mail</b>	

**Palabras o frases claves:**

Micorrizas nativas
Nutrientes
Yuca
Agua de cultivo
Biofertilizante

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

### Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencias	Biología

### Resumen (abstract):

Se evaluó el efecto de la aplicación de distintas concentraciones de residuos del agua de cultivo de *Chlorella vulgaris* (0, 25, 50 y 100%) sobre el crecimiento y desarrollo de plantas de yuca (*Manihot esculenta*) cultivadas en suelos inoculados con micorrizas nativas y mantenidas bajo condiciones de vivero. Se aplicó semanalmente los tratamientos correspondientes durante 80 días posteriores a la emergencia de las plantas. Se realizaron registros quincenales de los parámetros de crecimiento y desarrollo de la parte vegetativa (altura, grosor del cuello del tallo y número de hojas fotosintéticas) y al momento de la cosecha de las plantas (70 días de aplicación de los tratamientos) se midió la longitud del sistema radical y se determinó la biomasa seca, porcentaje de infección micorrízica (%F), riqueza arbuscular (%A) y número de esporas de HMA en 100 g de suelo. Las pruebas de Kruskal-Wallis aplicadas demuestran que en la altura promedio de las plantas no existen diferencias estadísticamente significativas en los días 0 y 15; pero sí hay diferencias significativas en los días 30, 45, 60 y 70 de experimentación, siendo el tratamiento control (0%) el que registra los mayores valores en comparación con las plantas sometidas a las distintas concentraciones de residuos (25%, 50% y 100%). El número de hojas fotosintéticas reporta diferencias significativas solo a los 15 días de aplicación del tratamiento, observándose que la aplicación de residuos del agua de cultivo de *C. vulgaris* al 100% reduce significativamente el número de hojas por planta. El resto de los parámetros registrados, incluyendo el grosor del cuello del tallo, longitud del sistema radical, biomasa seca, %F, %A y el número de esporas por 100 g de suelo muestran diferencias estadísticamente no significativas; aunque se evidenciaron mayores valores en las plantas control que en las que se le aplicó los residuos (25, 50 y 100%). Estos resultados sugieren que los residuos del agua de cultivo *Chlorella vulgaris*, no contribuyen al desarrollo del cultivo de yuca en suelos micorrizados, por lo que no pueden ser recomendados para su uso como biofertilizante bajo las condiciones establecidas en esta investigación.

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

### Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
Medina M. Fanny del V.	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input checked="" type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	18 417 742
	e-mail	<i>medinamfanny_13@hotmail.com</i>
	e-mail	<i>medinamfanny1313@gmail.com</i>
	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" 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	
	e-mail	

### Fecha de discusión y aprobación:

Año	Mes	Día
2022	06	08

Lenguaje: spa

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

### Archivo (s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
TG-acuñab.doc	Word 1997-2003

### Alcance:

**Espacial:** Nacional (Opcional)

**Temporal:** Temporal (Opcional)

### Título o Grado asociado con el trabajo:

Licenciado en Biología

**Nivel Asociado con el Trabajo:** Licenciado

**Área de Estudio:** Biología

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

UNIVERSIDAD DE ORIENTE, NÚCLEO DE SUCRE

# 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"**.

Letdo 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.

Comunicación que hago a usted a los fines consiguientes.

UNIVERSIDAD DE ORIENTE SISTEMA DE BIBLIOTECA	Cordialmente,	
RECIBIDO POR <i>Mazley</i>		
FECHA <u>5/8/09</u> HORA <u>5:30</u>	<b>JUAN A. BOLAÑOS CUNVELO</b>	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/maruja

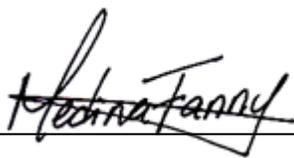
## Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 6/6

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



---

Beda M. Acuña A.  
AUTORA



---

Fanny Del V. Medina M.  
TUTORA