

**LA FORMONONETINA NO ESTIMULA LA FORMACIÓN DE LA MICORRIZA
ARBUSCULAR EN PLÁNTULAS DE *Elaeis guineensis*, CON ALTO FÓSFORO
EN EL SUELO**

SILVIA EUGENIA BARRERA BERDUGO

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
ESCUELA DE BIOLOGÍA
BUCARAMANGA
2009**

**LA FORMONONETINA NO ESTIMULA LA FORMACIÓN DE LA MICORRIZA
ARBUSCULAR EN PLÁNTULAS DE *Elaeis guineensis*, CON ALTO FÓSFORO
EN EL SUELO**

SILVIA EUGENIA BARRERA BERDUGO

**Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de
Biólogo**

**Director
NELSON F. RODRÍGUEZ LOPEZ
MSc. Fisiología Vegetal**

**Codirectora
PAULA ADRIANA ROJAS ORTIZ
Microbióloga industrial**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
ESCUELA DE BIOLOGÍA
BUCARAMANGA
2009**

*A Dios por ser quien me ilumina y me
guía.
A mis padres por su sacrificio para que alcanzara mi
título como Bióloga.
A la memoria de Bernardo Sarmiento.
A Inesita por su apoyo y sus continuos consejos.*

CONTENIDO

	pág.
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MATERIALES Y METODOS	3
2.1. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	4
3. RESULTADOS	6
4. DISCUSIÓN	8
4.1. COLONIZACIÓN MICORRIZICA Y NÚMERO DE ESPORAS	8
4.2. PARÁMETROS DE CRECIMIENTO Y ACUMULACIÓN DE MATERIA SECA	9
5. CONCLUSIONES	11
6. AGRADECIMENTOS	12
REFERENCIAS	13

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. Especies de Hongos micorrizicos arbusculares utilizados en este experimento haciendo parte del inóculo nativo y comercial.	17
Tabla 2. Efecto de la formononetina sobre los parámetros de porcentaje de colonización, número de esporas y materia seca de las plántulas de palma de aceite en diferentes épocas de muestreo.	18
Tabla 3. Efecto de la aplicación de la formononetina en los parámetros de crecimiento Tasa de Crecimiento Relativo (TCR g ² día ⁻¹) y Tasa de Asimilación Neta (TAN g cm ⁻² día ⁻¹) de las plántulas de palma de aceite en cada intervalo de tiempo. Los datos fueron obtenidos por el método propuesto por Hunt et al,.	19
Tabla 4. Análisis físico-químico del suelo utilizado en el experimento al final del mismo para cada tratamiento.	20

RESUMEN

TÍTULO: LA FORMONONETINA NO ESTIMULA LA FORMACIÓN DE LA MICORRIZA ARBUSCULAR EN PLÁNTULAS DE *Elaeis guineensis*, CON ALTO FÓSFORO EN EL SUELO *

AUTOR: BARRERA BERDUGO, Silvia Eugenia **

PALABRAS CLAVES: Palma de aceite, isoflavonoide, nivel de P en el suelo, colonización micorrízica, número de esporas, condiciones edáficas.

DESCRIPCIÓN:

La formononetina ha promovido la simbiosis micorrizica arbuscular y en algunos casos, la ganancia de materia seca en plantas cultivadas anualmente. Su efecto en plantas perenes como *Elaeis guineensis* no ha sido estudiado. Fue evaluado el efecto de la formononetina sobre la simbiosis entre hongos micorrizicos arbusculares (HMAs) nativos y comerciales en plántulas de *E. guineensis* en condiciones de vivero. Se evaluaron seis tratamientos usando HMAs nativos, comerciales y la mezcla de ambos, con y sin aplicación de formononetina, completamente al azar y cinco unidades experimentales. La concentración del isoflavonoide fue de $0,5 \text{ g.L}^{-1}$. Se realizó un muestreo inicial de masa seca, otro a los 45 y 90 días después del trasplante. Se analizaron el porcentaje de colonización (%C), número de esporas (NE), materia seca total (MST), tasa de crecimiento relativo (TCR) y tasa de asimilación neta (TAN). La %C y el NE no fueron estimulados por la formononetina. Diferencias significativas fueron encontradas entre los tratamientos C+F y C ($p=0.009$) a los 90 días en la %C y entre Mixto y MixtoF ($p=0.006$) para el NE a los 45 días. Aunque el nivel de P en el suelo fue alto al inicio (59ppm) y al final del experimento, se presentó colonización de la raíz. La formononetina no incrementó la MST, TCR y la TAN. La ausencia de estímulo en la %C y el NE posiblemente se debe al alto nivel de P en el sustrato, asociado a otros factores como respuesta y reconocimiento especie específica entre planta y HMA. La respuesta en la TCR y MST, fue probablemente el resultado de una interacción de factores como tipo de hongo, edad de la planta y costo de la simbiosis. Esto inhibió en las primeras fases del desenvolvimiento de las plántulas los posibles efectos positivos de la aplicación de la formononetina.

* Proyecto de Grado.

** Facultad de Ciencias. Escuela de Biología. Director: Nelson Rodríguez López MSc. Codirector: Paula A. Rojas.

ABSTRACT

TITLE: FORMONONETIN DO NOT STIMULATE THE FORMATION OF ARBUSCULAR MYCORRHIZAE IN SEEDLINGS OF *Elaeis guineensis*, WITH HIGH PHOSPHOROUS IN THE SOIL *

AUTHOR: BARRERA BERDUGO, Silvia Eugenia **

KEY WORDS: Oil palm, isoflavonoid, P level en the soil, mycorrhizal colonization, spore numbers, edaphic conditions.

DESCRIPTION:

The formononetin has promoted the mycorrhizal symbiosis and in some cases, the gain of biomass in cultivated plants. The effect of this isoflavonoid has not been studied in perennial crops like *Elaeis guineensis*. In this study, the effect of formononetin on the symbiosis between arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), indigenous and commercial, and seedlings of *E. guineensis* were examined in nursery conditions. We evaluated six treatments: indigenous, commercial AMF and its mix, with and without application of formononetin, completely at random with five experimental units. The formononetin concentration used was $0,5\text{mg.L}^{-1}$. At the beginning, 45 and 90 days after final transplanting the variables percentages of mycorrhizal colonization, number of spores, relative growth rate (RGR), net assimilation rate (NAR) and dry matter (DM) were analyzed. The micorrhizal colonization (%C) and spore numbers (SN) were not stimulated by the formononetin. Significant differences were found between the treatments C+F and C ($p=0.009$) to 90 days in the %C. In the SN, differences were observed to 45 days between the treatments Mixto and MixtoF ($p=0.006$). Although the P level was high at the beginning (59ppm) and the end to the experiment, colonization in the root was observed. There had no effect on DM, RGR and NAR. The absence of a stimulus in %C and NE with application of formononetin, is possibly due to the high level of P in the substrate. There are other factors such as answer specific kind of fungi and recognition between plant species-AMF that also influence. A poor response RGR and DM was probably the result of a possible interaction of associated factors such as the type of fungus, age of the plant and cost of mycorrhizal symbiosis. This interaction probably inhibited in the early stages of the development of palm, possible positive effects from the application of formononetin.

* Grade Project.

** Faculty of Sciences. School of Biology. Director: Nelson Rodríguez López MSc. Codirector: Paula A. Rojas.

1. INTRODUCCIÓN

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMAs) son microorganismos del suelo que forman una asociación simbiótica con aproximadamente un 80% de las plantas terrestres (Vierheilig, 2004). La importancia de los HMAs en la agricultura se debe a su extenso micelio extra radical que permite mayor zona de exploración del sistema radical (Requena *et al.*, 2007). Esto proporciona a la planta ventajas como absorción de nutrientes de baja disponibilidad, especialmente fósforo (P) (Requena *et al.*, 2007), aumento de la tolerancia a condiciones de estrés abiótico, mejoramiento de la calidad del suelo, fijación de N₂ (Barea *et al.*, 2005) y aumento en la diversidad y productividad de las plantas en un ecosistema determinado (Azcón-Aguilar & Barea, 1997). Los HMAs brindan protección a la raíz contra microorganismos patógenos que al invadirla inician en la planta cambios fisiológicos y bioquímicos, como por ejemplo la producción de metabolitos antifúngicos o la deposición de lignina, como mecanismo de defensa y que no ocurren cuando un HMA coloniza la planta (Peterson y Massicotte, 2004; Barea *et al.*, 2005).

Evidencias indican que, metabolitos secundarios producidos por las plantas tienen una acción reguladora en la simbiosis micorrízica no sólo en la etapa de reconocimiento de los HMAs, sino también en la etapa de colonización (Akiyama *et al.*, 2002; Larose *et al.*, 2002). Un ejemplo de estos es el 7-hidroxi,4'-metoxi isoflavona conocido como formononetina. Este isoflavonoide ha incrementado significativamente el porcentaje de colonización de HMAs en soya y maíz, pero no la materia seca de estas especies vegetales (Da Silva-Júnior y Siquiera, 1997). Davis *et al.*, (2005 a,b), en experimentos realizados en campo y laboratorio, respectivamente, no encontraron un efecto estimulante de la formononetina sobre el porcentaje de colonización en el sistema radicular de plantas de papa (*Solanum tuberosum*); sin embargo, tanto en campo como en invernadero, el número de

esporas dependiendo del HMA utilizado, fue estimulado. Es importante entonces tener en cuenta que un efecto inhibitorio o estimulante en la formación de la simbiosis, se puede dar de acuerdo al HMA empleado para inocular y a la dosis usada del isoflavonoide (Scervino *et al.*, 2005).

Elaeis guineensis Jacq., (Palma de aceite) es una planta tropical perenne, con un ciclo de vida que puede sobrepasar los 100 años y un promedio de vida productiva de 25 a 30 años (Revelo, 2002). La palma de aceite es cultivada por su alta producción de aceite con un alto rendimiento de los cultivos, por eso, es preciso la búsqueda de alternativas que reduzcan sus costos de producción y favorezcan la formación de plántulas vigorosas en vivero antes de ser llevadas para campo (CEA & J.E. Austin Associates, 2002).

La palma de aceite es una planta que forma asociación simbiótica con HMA nativos en su hábitat natural (Sieverding, 1991). Chu (1997) y Corley & Tinker (2003) indicaron que la palma de aceite es funcionalmente dependiente de los HMA ya que plántulas de palma de aceite en suelo estéril no se desarrollan si no están colonizadas por este tipo de microorganismos. En condiciones de vivero, han sido reportados resultados favorables de los HMAs sobre el crecimiento de la palma de aceite, en intervalos de tiempo cortos y largos, así como en la absorción de nutrientes (Blal *et al.*, 1990; Chu, 1997; Motta & Munévar, 2005). Esto sucedió también con alta concentración de P como es observado en los viveros productores de plántulas de esta especie. Existen datos sobre los efectos de los HMAs en plántulas de palma de aceite en vivero, pero no existen en la literatura resultados de los efectos de la formononetina sobre la simbiosis entre HMAs tanto nativos como comerciales y plántulas de palma de aceite. En este trabajo nosotros tuvimos como objetivo evaluar el efecto del isoflavonoide formononetina en la asociación mutualística entre HMAs nativos y comerciales y plántulas de palma de aceite, sobre una concentración alta de fósforo en el sustrato en fase de vivero, usando solamente una concentración del isoflavonoide.

2. MATERIALES Y METODOS

El montaje del experimento se realizó en la Granja Experimental Guatiguará (Piedecuesta-Santander), en condiciones de vivero. La temperatura mínima promedio fue de 19°C y la temperatura máxima 35°C. Las plántulas de *E. guineensis* cultivar Tenera de tres meses de edad fueron trasplantadas a bolsas de polietileno de 12 kilos que contenían una mezcla de suelo y arena de río en una proporción 3:1. El suelo mostró una textura franco-arenosa con las siguientes características físico-químicas: pH=6.8, MO=1.9%, N=0.095%, P=59 ppm y Ca=11.7, K=0.32 y Mg=1.2 meq/100 g de suelo y fue esterilizado previamente con Basamid[®] a la dosis recomendada (60 g/m²). En este experimento fueron utilizados: El inóculo nativo, aislado de las zonas palmicultoras de Santander y el inóculo foráneo (Comercial), producto Suppra[®]. Las especies que pertenecen a cada inóculo son registradas en la Tabla 1. Se utilizaron 25 g de inóculo nativo (32 esporas/g suelo), 25 g de inóculo comercial (34 esporas/g suelo) y 12.5 g de cada uno para el inóculo mixto (mezcla de IN y de IC). Se hizo una aplicación de 100 ml de Myconate[®], (VAMTech. L.L.C Lansing, MI, USA) una forma soluble de la formononetina, de concentración 0.5 g.L⁻¹ en el momento del trasplante. Cada 10 días se aplicaron 100 ml de solución de nutrientes de Hoagland baja en P (0,11g/l NH₄H₂PO₄ – 31 ppm).

Para determinar el porcentaje de colonización se realizó la metodología con azul de tripán con algunas modificaciones hechas por Sieverding (1991) apropiadas para suelos tropicales. El porcentaje de colonización se obtuvo a partir del número de campos positivos (vesículas o hifas) sobre el número de campos totales multiplicado X 100. Se cuantificó el porcentaje de colonización con ayuda del microscopio. Para el aislamiento de esporas se tomaron 10 g de suelo de la rizosfera de la planta al momento del muestreo, siguiendo el método de tamizaje y centrifugación con sacarosa con algunas modificaciones hechas por Sieverding

(1991) apropiadas para suelos tropicales. La cuantificación se realizó en un estereoscopio. Lo HMAs se identificaron en el laboratorio de Microbiología de Suelos de la Universidad Regional de Blumenau, SC, Brasil.

2.1. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado, con los tratamientos: mezcla entre Inóculo Nativo, Inóculo Comercial y formononetina (Mixto+F); la mezcla del Inóculo Nativo con el Inóculo Comercial (Mixto); Inóculo Nativo y formononetina (N+F); Inóculo Nativo (N); Inóculo Comercial y formononetina (C+F); Inóculo Comercial (C). En cada uno de los tratamientos se emplearon 15 unidades experimentales y se tomaron cinco plantas por muestreo. Se realizaron tres muestreos, un muestreo inicial de materia seca al comienzo del experimento, el segundo a los 45 días después del trasplante (ddt) y el tercero a los 90 ddt.

Los datos obtenidos de colonización micorrízica, número de esporas y materia seca total fueron analizados por muestreos de forma independiente. A los datos les fueron realizadas pruebas de normalidad, homogeneidad de varianzas y posteriormente una prueba de comparación de medias mediante el t de student o Mann-Whitney ($P < 0.05$) si no pasaban las pruebas de normalidad y homogeneidad de varianzas y no podían ser transformados.

Los parámetros de crecimiento evaluados en la planta, la tasa de crecimiento relativo (TCR) y la tasa de asimilación neta (TAN) se calcularon por el método de la aproximación clásica mediante la hoja de Excel propuesta por Hunt., *et al* (2002) para cada tratamiento, seguida de una prueba de comparación de medias (t-student-test, Mann-Whitney test) para determinar las diferencias significativas entre estos.

El área foliar se estimó usando el programa CompuEye, Leaf & Symptom Area Versión. 11.001 (Bakr, 2004). Los datos fueron analizados mediante el programa SPSS versión 12.0 para Windows (SPSS Inc., 2003).

3. RESULTADOS

La colonización micorrizica fue observada en todos los tratamientos en las dos épocas de muestreo. A los 45 días después del inicio del experimento, no se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos con y sin aplicación de formononetina (Tabla 2). En el último muestreo, 90 días después del inicio del experimento, se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos C+F y C. En general, el tratamiento C presentó el mayor porcentaje de colonización en las dos épocas de muestreo, pero ese porcentaje no aumentó con el tiempo. En la primera época estuvo por encima del 48% y para la segunda época fue mayor del 39% con un nivel de fósforo en el suelo superior (Tabla 4) al del inicio del experimento (59ppm).

El efecto de la aplicación de la formononetina en el sustrato sobre el número de esporas no fue evidenciado en las dos épocas muestreadas (Tabla 2). A los 45 ddt entre los tratamientos Mixto y Mixto+F se encontraron diferencias significativas (Tabla 2). A los 90 ddt no hubo efectos estadísticos significativos en los tratamientos con adición de formononetina sobre el número de esporas, comparados con sus tratamientos control (Tabla 2). Fue observada una tendencia a la caída en ese parámetro en los tratamientos C+F e N+F y un incremento en el tratamiento Mixto+F.

La acumulación de materia seca de las plántulas de palma de aceite aumentó con el tiempo, pero no fue influenciada por la aplicación de la formononetina (Tabla 2). A los 45 ddt las plántulas del tratamiento C fueron las que presentaron mayor producción de materia seca. A los 90 ddt fue el tratamiento Mixto. Los parámetros de crecimiento, TCR y TAN, no presentaron diferencias estadísticas entre los tratamientos con formononetina y sus respectivos testigos durante el experimento (Tabla 3). La TCR fue mayor en el intervalo de tiempo 0-45 días para el

tratamiento C y el tratamiento Mixto mostró la mayor TCR para los otros dos intervalos. En la TAN los valores mas altos estuvieron en los tratamientos Mixto y MixtoF (Tabla 3).

4. DISCUSIÓN

4.1 COLONIZACIÓN MICORRIZICA Y NÚMERO DE ESPORAS

La aplicación de la formononetina no estimuló la colonización micorrizica en las épocas estudiadas en este experimento. La acción de los isoflavonoides en la simbiosis entre HMAs y plantas es contradictoria. Algunas veces se puede dar un estímulo en la colonización con una concentración alta de P en el suelo (Akiyama *et al.*, 2002), o hay un estímulo en ese proceso con una concentración baja de ese elemento en el suelo (Silva-Júnior & Siqueira, 1997). Davis *et al.*, (2005b) no observaron diferencias significativas en la colonización micorrizica en papa con un nivel de P en el suelo de 18.2 ppm y pH de 3,6 en campo. Las características de la especie, el tiempo de evaluación del isoflavonoide (Baptista & Siqueira 1994; Silva-Júnior & Siquiera, 1997), el tipo de hongo (Davis *et al.*, 2005a, b; Scervino *et al.*, 2005) y las características físico-químicas del suelo (Akiyama *et al.*, 2002), son factores que deben ser considerados cuando se va a evaluar el efecto del isoflavonoide. Los resultados obtenidos en este trabajo sugieren que la ausencia de estímulo en los tratamientos con aplicación de la formononetina, posiblemente, se deben al alto nivel de P en el sustrato desde el inicio del experimento, junto con la interacción con otras características físico-químicas del suelo (pH, materia orgánica, textura del suelo). Esta respuesta está asociada también a una respuesta especie – específica de reconocimiento planta – HMA. Además, posibles diferencias en la actividad metabólica de los dos simbioses y patrones diferentes de colonización de los hongos, en parte explicarían la eficiencia de los HMAs en la planta hospedera (Smith & Read, 1997).

La palma de aceite es una planta que necesita de la simbiosis mutualística para su desarrollo (Chu, 1997; Corley & Tinker, 2003), por eso, la concentración alta de P en el suelo no inhibió la colonización micorrizica, no obstante, hay una tendencia a

disminuir en los tratamientos donde a los 90 ddt, el nivel de P en el suelo fue mayor.

Los valores de porcentaje de colonización son similares a los reportados para palma de aceite por Chu (1997). Este autor mostró que el porcentaje de colonización fue de 24,88% hasta 64,36% utilizando niveles de fertilización entre 0 a 100% de la dosis recomendada para palma de aceite (400g urea + 400g superfosfato triplo + 100g clorato de potasio + 100g sulfato de magnesio equivalente a 180g de N + 98,4g de P + 52g de K + 9,9g de Mg/100 litros de agua/30m²).

En cuanto al número de esporas, la formononetina ha mostrado un efecto estimulante en el número de esporas de HMAs nativos en papa, con una concentración de 15 mg.L⁻¹ y una concentración baja de fósforo en el suelo (Davis et al., 2005a, b), pero el efecto significativo de este isoflavonoide se observó en la producción de esporas del género *Gigaspora* y no del género *Glomus* (Davis et al., 2005b). Además, las condiciones edáficas del suelo son un indicador del comportamiento de los HMAs en él (Serralde & Ramírez, 2004). Los resultados obtenidos en nuestro trabajo indican que junto con la concentración de formononetina aplicada al sustrato y las condiciones edáficas de este, las características de los HMAs que pertenecen al inóculo utilizado, presentaron diferencias en su tolerancia o aclimatación a las condiciones de pH del suelo o a la alta concentración de P, como fue sugerido por Sieverding (1991).

4.2 PARÁMETROS DE CRECIMIENTO Y ACUMULACIÓN DE MATERIA SECA

La materia seca de las plántulas no fue incrementada por la aplicación de la formononetina en este experimento. Los resultados coinciden con lo reportado por Silva-Júnior e Siqueira (1997) en maíz y soya utilizando el mismo isoflavonoide,

aunque con una concentración diferente. La concentración de la formononetina usada en el experimento de estos autores fue de 5 mg.L^{-1} y el volumen de aplicación fue de 400ml/vaso.

La falta de diferencias en la tasa de crecimiento relativo, la tasa de asimilación neta y la ganancia de materia seca se puede explicar como resultado del alto costo que requiere la formación de la simbiosis micorrizica (Schroeder e Janos, 2004). Hay casos en que el hongo toma una alta proporción de P del suelo, pero el contenido de este elemento en la planta no se incrementa causando una disminución del crecimiento de la planta con respecto a plantas no micorrizadas (Jones & Smith, 2004). Además, un gran porcentaje de los carbohidratos que son translocados a la raíz, son transferido al hongo, incrementando los costos de la simbiosis en las plantas asociadas a los HMAs que en aquellas que no lo están (Bryla & Eissenstat, 2005). Este drenaje de carbono se empieza a ver compensado en el tiempo por el aumento en la tasa fotosintética, explicado por el incremento del área foliar de la planta, elevadas concentraciones de P foliar y un mejoramiento en las relaciones hídricas de las plantas (Sanchez de Prager, 2007), beneficios obtenidos de la asociación mutualística con HMAs. Los resultados obtenidos en este trabajo indican que la baja cantidad de carbono neto reflejado a través de la TCR, TAN y la materia seca total es el resultado de una posible interacción de factores asociados como el tipo de hongo, edad de la plantas y costo de la simbiosis micorrizica, no reflejados en las primeras fases de desarrollo de las plántulas de palma de aceite y así, los posibles efectos positivos por la aplicación de la formononetina no fueron evidenciados.

5. CONCLUSIONES

- La asociación mutualística entre HMAs y plántulas de palma de aceite no fue estimulada por la aplicación de la formononetina tanto en HMAs, nativos, comerciales y su mezcla y tampoco favoreció el incremento en la tasa de crecimiento, la tasa de asimilación neta y la acumulación de materia seca de las plántulas, sobre una concentración alta de fósforo en el sustrato, en fase de vivero.
- El tratamiento C para las variables colonización micorrizica y materia seca a los 45 ddt y el tratamiento Mixto para las variables materia seca a los 90 ddt y número de esporas a los 45 ddt, presentaron las mejores respuestas durante el tiempo del experimento.
- El nivel de P en el suelo que fue alto al inicio y al final del experimento no inhibió la colonización micorrizica, sin embargo es altamente probable que este factor junto con otros (como condiciones edáficas del suelo, tipo de HMA, edad da planta), no permitiera observar el efecto esperado de la formononetina.
- No se puede decir con estos resultados, el modo de acción de la formononetina sobre la micorrización en la palma de aceite. Es posible que los efectos se vean después de los 90 días por la condición perenne de la planta.

6. AGRADECIMENTOS

A la empresa SUPPRA y Cia y al Servicio Nacional de Aprendizaje (SENA) por su aporte económico. Al doctor Sidney Luiz Stürmer en la UFBlu, por su colaboración e identificación de los HMAs nativos. Se agradece y destaca al biólogo José D. Osório por su decidido apoyo a la agricultura biológica en Colombia.

REFERENCIAS

AKIYAMA, K., MATSUOKA, H. & HAYASHI, H. Isolation and identification of a phosphate deficiency-induced C-Glycosylflavonoid that stimulates arbuscular mycorrhiza formation in melon roots. *Molecular Plant -Microbe Interactions*, 15(4):334-340, 2002.

AZCÓN-AGUILAR, C. & BAREA, J. M. Applying mycorrhiza biotechnology to horticulture: significance and potentials. *Scientia Horticulturae*, 68:1-24, 1997.

BAREA, J. M., POZO, M. J., AZCÓN, R. & AZCÓN-AGUILAR, C. Microbial cooperation in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*, 56(417):1761–1778, 2005.

BAKR, E. CompuEye, Leaf & Symptom Area. Version 11.001. Disponível em: <http://www.ehabsoft.com/CompuEye/LeafSArea/>, 2004.

BAPTISTA, M. & SIQUEIRA, J. Efeito de flavonóides na germinação de esporos e no crescimento assimbiótico do fungo micorrízico arbuscular *Gigaspora gigantea*. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, 6(2):127-134, 1994.

BLAL, B., MOREL, C., GIANINAZZI-PEARSON, V., FARDEAU, J. C. & GIANINAZZI, S. Influence of vesicular-arbuscular mycorrhizae on phosphate fertilizer efficiency in two tropical acid soils planted with micropropagated oil palm (*Elaeis guineensis* jacq.). *Biology and Fertility of Soils*, 9:43-48, 1990.

BRYLA, D. & EISSENSTAT, D. Respiratory costs of mycorrhizal associations. In: Lambers, H.; Ribas-Carbo, M. Plant respiration from cell to ecosystem. ed. University Illinois, Urbana, Illinois USA. p. 207-225. 2005.

CORLEY, R. H. V & TINKER, P. B. 2003. The oil palm. Cuarta edición. Blackwell Science Iowa USA. pp 327-360.

CORPORACIÓN CEA & J.E.AUSTIN ASSOCIATES. Estudio del mercado mundial para aceite de palma africana. Disponible en: <http://bogota.usembassy.gov/wwwfad08.pdf>, 2002.

CHU, E. Y. Influência dos fungos micorrízicos arbusculares e níveis de adubação do no crescimento inicial de mudas de Dendê. Embrapa. Boletim de Pesquisa, 176: 1-20, 1997.

DAVIES, F. T., CALDERÓN, C. & HUAMAN, Z. Influence of arbuscular mycorrhiza indigenous to Peru and a flavonoid on growth, yield and leaf elemental concentration of 'Yungay' potatoes (*Solanum tuberosum* L.). HortScience, 40(2):381-385, 2005a.

DAVIES, F. T., CALDERÓN, C., HUAMAN, Z. & GOMEZ, R. Influence of flavonoid (Formononetin) on mycorrhizal activity and potato crop productivity in the highlands of Peru. Scientia Horticulturae, 106(3):318-329, 2005b.

HUNT, R., CAUSTON, D. R., SHIPLEY, B. & ASKEW, A. A modern tool for classical plant growth analysis. Annals of Botany, 90:485-488, 2002.

JONES, M. & SMITH, S. Exploring functional definitions mycorrhizas: are mycorrhizas always mutualism? Canadian Journal of Botany, 82:1089-1109, 2004.

LAROSE, G. R., CHENEVERT, R., MOUTOGLIS, P., GAGNÉ, S., PICHÉ, Y. & VIERHEILIG, H. Flavonoid levels in roots of *Medicago sativa* are modulated by developmental stage of the symbiosis the root colonizing arbuscular mycorrhizal fungus. Journal of Plant Physiology, 159:1329-1339, 2002.

MOTTA, D. & MUNÉVAR, F. Respuesta de plántulas de palma de aceite a la micorrización. *Palmas*, 26(3):11-20, 2005.

PETERSON, R. L. & MASSICOTTE, H. B. Exploring structural definitions of mycorrhizas, with emphasis on nutrient-exchange interfaces. *Canadian Journal of Botany*, 82(8): 1074-1088, 2004.

REQUENA, N, SERRANO, E., OCÓN, A. & BREUNINGER, M. Plant signals and fungal perceptions during arbuscular mycorrhizal establishment. *Phytochemistry*, 68:33-40, 2007.

REVELO, M. Generalidades sobre Botánica Morfología y Fisiología. En: Revelo, M. ed. *Palmicultura Moderna Volumen I*. Sociedad las Palmas Ltda. Bogotá. 2002. p. 9-18.

SANCHEZ, M. Las Micorrizas: Estrategia compartida para colonizar el suelo. En Sanchez, M. ed. *Las endomicorrizas: Expresión bioedáfica de importancia en el trópico*. Universidad Nacional de Colombia. Palmira, p. 115-175. 2007.

SCERVINO, J. M., PONCE, M. A., ERRA-BASSELLS, R., VIERHEILIG, H., OCAMPO, J. A. & GODEAS, A. Arbuscular mycorrhizal colonization of tomato by *Gigaspora* and *Glomus* species in the presence of root flavonoids. *Journal of plant physiology*, 162:625-633, 2005.

SCHROEDER, M. S. & JANOS, D. Phosphorus and intraspecific density alter plant responses to arbuscular mycorrhizas. *Plant and Soil*, 264:335–348, 2004.

SERRALDE. A & RAMIREZ. M. 2004. Análisis de poblaciones de micorrizas en maíz (*Zea mays*) cultivado en suelos ácidos bajo diferentes tratamientos agronómicos. *Revista Corpoica* 5(1) 31-40.

SIEVERDING, E. Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems. GTZ, Eschborn, Germany. 1991. 371p.

SILVA-JÚNIOR, J. & SIQUEIRA. J. Aplicação de formononetina sintética ao solo como estimulante da formação de micorriza no milho e na soja. Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal, 9(1):33-39, 1997.

SMITH. S. E Y READ. D. J. Mycorrhizal Symbiosis. Academic Press Limited, Londres. 1997. 605pp.

VIERHEILIG, H. Regulatory mechanisms during the plant - arbuscular mycorrhizal fungus interaction. Canadian Journal of Botany, 82:1166-1176, 2004.

Tabla 1. Especies de Hongos micorrizicos arbusculares utilizados en este experimento haciendo parte del inóculo nativo y comercial.

Inóculo Nativo

Acaulospora delicada-like

Acaulospora mellea Spain & Schenck

Acaulospora scrobiculata Trappe

Acaulospora morrowiae Spain & Schenck

Acaulospora rehmii

Glomus sp.1

Glomus geosporum (Nicol & Gerd) Walker

Glomus etunicatum yellow Becker & Gerdermann

Glomus heterosporum-like

Glomus rubiformis (Gerd & Trappe) Almeida & Schenck

Inóculo Comercial

Glomus manihotis Howeler, Sieverding & Schenck

Acaulospora mellea Spain & Schenck

Entrophospora colombiana Spain & Schenck

Tabla 2. Efecto de la formononetina sobre los parámetros de porcentaje de colonización, número de esporas y materia seca de las plántulas de palma de aceite en diferentes épocas de muestreo.

Tratamiento:	Épocas de muestreo					
	45 días			90 días		
	Colonización %	Esporas Nº/g suelo	Materia seca G	Colonización %	Esporas Nº/g suelo	Materia seca g
MixtoF	68,67± 6,94a	36± 8,53b	13,64± 3,65a	57,02± 16,31a	55± 15,43a	36,18± 12,45a
Mixto	61,76± 11,87a	81± 25,57a	15,06± 4,13a	62,52± 12,88a	41± 12,24a	42,85± 18,71a
N+F	53,39± 12,41a	47± 15,91a	16,38± 6,62a	48,26± 15,47a	41± 15,90a	32,21± 24,24a
N	54,11± 21,20a	56± 13,79a	15,49± 3,42a	57,83± 15,13a	53± 20,38a	40,05± 10,60a
C+F	48,57± 5,08a	47± 6,66a	16,04± 2,20a	39,86± 12,28b	41± 5,83a	31,80± 8,07a
C	69,90± 18,08a	63± 18,47a	16,97± 4,55a	63,27± 8,61a	36± 9,52a	26,11± 13,06a

Medias seguidas por letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas. Las medias están seguidas del error standard. Tratamientos con la letra F indican aplicación de la formononetina. N: Inóculo nativo; C: Inóculo comercial; Mixto: Mezcla inóculo nativo+comercial.

Tabla 3. Efecto de la aplicación de la formononetina en los parámetros de crecimiento Tasa de Crecimiento Relativo (TCR $\text{g}^2 \text{día}^{-1}$) y Tasa de Asimilación Neta (TAN $\text{g cm}^{-2} \text{día}^{-1}$) de las plántulas de palma de aceite en cada intervalo de tiempo. Los datos fueron obtenidos por el método propuesto por Hunt et al.,.

Tratamientos	TCR	TCR	TCR	TAN	TAN	TAN
	0-45 días	45-90 días	0-90 días	0-45días	45-90 días	0-90 días
Mixto+F	0,019 ± 0,009a	0,021 ± 0,011a	0,020 ± 0,005a	0,004 ± 0,000a	0,003 ± 0,001a	0,002 ± 0,000a
Mixto	0,024 ± 0,013a	0,022 ± 0,010a	0,023 ± 0,007a	0,003 ± 0,001a	0,003 ± 0,002a	0,003 ± 0,001a
N+F	0,016 ± 0,012a	0,016 ± 0,010a	0,016 ± 0,002a	0,001 ± 0,001a	0,002 ± 0,001a	0,001 ± 0,000a
N	0,022 ± 0,010a	0,020 ± 0,007a	0,021 ± 0,004a	0,002 ± 0,000a	0,002 ± 0,001a	0,002 ± 0,0007a
C+F	0,022 ± 0,004a	0,014 ± 0,006a	0,018 ± 0,003a	0,0001 ± 3,8x10 ⁵ a	0,0005 ± 0,000a	0,001 ± 0,000a
C	0,029 ± 0,018a	0,008 ± 0,011a	0,018 ± 0,009a	0,003 ± 0,014a	0,0006 ± 0,001a	0,002 ± 0,001a

Medias seguidas por letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas. Las medias están seguidas del error standard. Tratamientos con la letra F indican aplicación de la formononetina. N: Inóculo nativo; C: Inóculo comercial; Mixto: Mezcla inóculo nativo+comercial.

Tabla 4. Análisis físico-químico del suelo utilizado en el experimento al final del mismo para cada tratamiento.

Tratamientos	pH	MO %	P (ppm)	Meq/100g solo				N %	TEXTURA
				K	Na	Ca	Mg		
Mixto+F	7,7	2,38	93	0,13	0,05	10,35	0,75	0,12	Franco-Arenoso
Mixto	7,6	1,98	77	0,12	0,06	10,97	0,76	0,099	Franco-Arenoso
C+F	7,7	1,93	114	0,11	0,05	10,76	0,68	0,097	Franco-Arenoso
C	7,6	1,72	105	0,14	0,05	11,25	0,78	0,086	Franco-Arenoso
N+F	7,6	1,69	72	0,11	0,03	10,55	0,67	0,084	Franco-Arenoso
N	7,7	1,90	63	0,11	0,05	10,34	0,69	0,095	Franco-Arenoso

Tratamientos con la letra F indican aplicación de la formononetina. N: Inóculo nativo; C: Inóculo comercial; Mixto: Mezcla inóculo nativo+comercial.