



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

EFFECTOS DEL SULFATO DE CALCIO (CaSO_4) EN PARÁMETROS
MORFOLÓGICOS Y FISIOLÓGICOS DE LA PIÑA cv. CUMANESA (*Ananas
comosus* (L.) Merr.) SOMETIDA A ESTRÉS SALINO POR CLORURO DE
SODIO (NaCl)

(Modalidad: Tesis de Grado)

MANUEL DE JESÚS RIVAS VELÁSQUEZ

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

CUMANÁ, 2017

EFFECTOS DEL SULFATO DE CALCIO (CaSO_4) EN PARÁMETROS
MORFOLÓGICOS Y FISIOLÓGICOS DE LA PIÑA cv. CUMANESA (*Ananas
comosus* (L.) Merr.) SOMETIDA A ESTRÉS SALINO POR CLORURO DE
SODIO (NaCl)

APROBADO POR:

Prof. José A. Véliz
Asesor

Dra. Rosanna Valerio

Dr. Edgar Zapata

ÍNDICE

DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTOS.....	ii
LISTA DE TABLAS	iii
LISTA DE FIGURAS	iv
RESUMEN.....	v
INTRODUCCIÓN	1
METODOLOGÍA.....	7
Material vegetal	7
Aclimatación y aplicación.....	7
Parámetros morfológicos.....	8
Biomasa fresca, biomasa seca y porcentaje del contenido de agua	8
Clorofila y acidez titulable	8
Proteínas, carbohidratos y prolina en hoja	9
Proteínas.....	9
Prolina	10
Análisis estadístico	10
CONCLUSIONES	25
RECOMENDACIONES.....	26
BIBLIOGRAFÍA.....	27
APÉNDICES	34
HOJAS DE METADATOS.....	36

DEDICATORIA

Dedicado enteramente a mi pilar, mi madre, mi padre, mi amiga, tutora e impulsora, que ante toda adversidad siempre estuvo presente, mi má Lucy Del Carmen.

¡Valió la pena el esfuerzo!

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a cada uno de los que colocaron un granito de arena para hacer esto posible. Mis tías Aida Velásquez, Isabel Mimbela. Mis profesores José Véliz, principal motor de esta investigación, Víctor Franco por su conocimiento y ayuda oportuna. Profs: Fanny Medina, Gregorio y Jose Imery, por facilitarme equipos y reactivos necesarios para culminar mi investigación. Mis compañeros de laboratorio, clases y académicos Fabián Innamorato, Orángel Acosta y Jaime Frontado.

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Número de hojas, longitud foliar total y número de raíces de *Ananas comosus* sometida a tres tratamientos salinos por 4 meses..... 13

Tabla 2. Valores de biomasa y porcentaje de contenido de agua de *Ananas comosus* sometida a tres tratamientos salinos por 4 meses..... 14

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Plantas de *Ananas comosus* sometidas a tres tratamientos salinos por 4 meses. T0 (control: 0 mmol.m⁻³ de NaCl), T1 (Salino: NaCl a 150 mmol.m⁻³) y T2 (Salino + Ca: NaCl a 150 mmol.m⁻³ + CaSO₄ a 10 mmol.m⁻³). 12
- Figura 2. Acidez titulable (ΔH^+) de hojas de *Ananas comosus* sometida a tres tratamientos salinos por 4 meses. T0 (control: 0 mmol.m⁻³ de NaCl), T1 (Salino: NaCl a 150 mmol.m⁻³) y T2 (Salino + Ca: NaCl a 150 mmol.m⁻³ + CaSO₄ a 10 mmol.m⁻³). Los valores representan las medias y la desviación estándar ($X \pm ES$, n=5), ns = no significativo. Las letras sobre las barras indican diferencias entre los tratamientos, según Duncan..... 16
- Figura 3. Contenido de pigmentos (A, B, C) de *Ananas comosus* sometida a tres tratamientos salinos por 4 meses. T0 (control: 0 mmol.m⁻³ de NaCl), T1 (Salino: NaCl a 150 mmol.m⁻³) y T2 (Salino + Ca: NaCl a 150 mmol.m⁻³ + CaSO₄ a 10 mmol.m⁻³). Los valores representan las medias y la desviación estándar ($X \pm ES$, n=5). Letras distintas sobre las barras indican diferencias entre los tratamientos, respecto al no salino, según Duncan..... 18
- Figura 4. Contenido de proteínas de *Ananas comosus* sometida a tres tratamientos salinos por 4 meses. T0 (control: 0 mmol.m⁻³ de NaCl), T1 (Salino: NaCl a 150 mmol.m⁻³) y T2 (Salino + Ca: NaCl a 150 mmol.m⁻³ + CaSO₄ a 10 mmol.m⁻³). Los valores representan las medias y la desviación estándar ($X \pm ES$, n=5), ns = no significativo. 19
- Figura 5. Contenido de carbohidratos de *Ananas comosus* sometida a tres tratamientos salinos por 4 meses. T0 (control: 0 mmol.m⁻³ de NaCl), T1 (Salino: NaCl a 150 mmol.m⁻³) y T2 (Salino + Ca: NaCl a 150 mmol.m⁻³ + CaSO₄ a 10 mmol.m⁻³). Los valores representan las medias y la desviación estándar ($X \pm ES$, n=5). Letras distintas indican diferencias, según Duncan.21
- Figura 6. Contenido de prolina de *Ananas comosus* sometida a tres tratamientos salinos por 4 meses. T0 (control: 0 mmol.m⁻³ de NaCl), T1 (Salino: NaCl a 150 mmol.m⁻³) y T2 (Salino + Ca: NaCl a 150 mmol.m⁻³ + CaSO₄ a 10 mmol.m⁻³). Los valores representan las medias y la desviación estándar ($X \pm ES$, n=5). Letras distintas indican diferencias entre tratamientos, según Duncan. 22

RESUMEN

Con la finalidad de evaluar el efecto del sulfato de calcio (CaSO_4) sobre la fisiología y morfología de *Ananas comosus* sometida a estrés salino, quince plantas se cultivaron en macetas, con medios estériles, a concentraciones de 0, 150 mmol.m^{-3} de NaCl y 150 mmol.m^{-3} de NaCl con 10 mmol.m^{-3} de CaSO_4 . El efecto de estos tratamientos sobre la productividad se determinó con base al número y largo de hojas, número de raíces, biomasa fresca y seca de todas las plantas. La fisiología se evaluó cuantificando la acidez titulable, clorofila, proteínas, carbohidratos y prolina en hojas siguiendo la metodología estándar. Todas las plantas sobrevivieron a los tratamientos. Los parámetros morfológicos evaluados no variaron con los tratamientos aplicados. En cuanto a los parámetros fisiológicos, la acidez titulable, correspondiente al malato, no varió entre tratamientos, sin embargo, la correspondiente al citrato fue mayor en el tratamiento 150 mmol.m^{-3} de NaCl. Los contenidos de clorofila *a* y *b*, en el tratamiento salino, variaron respecto al control, mientras en el tratamiento con calcio se mantuvieron; la clorofila total disminuyó en el tratamiento salino, mientras que se incrementó en el tratamiento salino con calcio. El contenido de proteínas no presentó diferencias entre tratamientos. El contenido de carbohidratos disminuyó en el tratamiento salino. La prolina disminuyó respecto al tratamiento control. En conclusión, la productividad de las plantas de piña no se vio afectada al ser cultivada en presencia de NaCl ni en NaCl más calcio; no obstante, la presencia de calcio mejoró las concentraciones de la clorofila y carbohidratos. Estos resultados permiten recomendar el cultivo de piña en cualquier zona del estado Sucre y de la región oriental del país.

INTRODUCCIÓN

Las plantas pueden enfrentar situaciones de estrés durante su crecimiento, las cuales son producidas tanto por factores bióticos como abióticos. Estas situaciones, dependiendo de su intensidad y duración pueden reducir la vitalidad de las plantas, dañándolas e incluso causándoles la muerte. También pueden inducir una serie de cambios adaptativos específicos que conllevan a mejorar su funcionamiento mientras dura la situación de estrés (Reigosa *et al.*, 2004; Taiz y Zeiger, 2006).

Los principales factores abióticos que causan estrés en las plantas son la toxicidad por iones específicos, alta concentración salina en los suelos, acidez/alcalinidad, déficit o exceso de agua, temperaturas extremas, ozono, heridas, viento, presión, sonido, campos magnéticos y eléctricos. Estos factores ocasionan restricciones en el crecimiento del vegetal y la productividad de los cultivos (Reigosa, 1992; Larcher, 1995; Lichtenthaler, 1998).

En las plantas, las altas concentraciones salinas causan dos problemas fundamentales, uno es el efecto del estrés hídrico ocasionado por la disminución del potencial osmótico del medio de enraizamiento, el otro es la toxicidad iónica y desbalance nutricional (Barceló *et al.*, 2005).

Existen mecanismos estructurales, fisiológicos y bioquímicos de tolerancia que permiten que las plantas puedan continuar con sus funciones vitales en situaciones de alta salinidad. Cada cultivo vegetal responde de manera particular a este tipo de estrés; en algunos casos producen rendimientos aceptables a altas concentraciones de sales, mientras que en otros son sensibles a las bajas salinidades (Serrano, 1996).

Las plantas realizan cambios en sus mecanismos que mejoran la eficiencia en el uso del agua (Tal, 1971; Shannon, 1979; Hale y Orcutt, 1987). Entre los mecanismos estructurales destacan la eliminación del

exceso de sales a través de glándulas o tricomas secretores (Rozema et al., 1985; Sykes y Wilson, 1988), restricción del transporte hacia órganos vitales y acumulación de sales en órganos viejos, absorción selectiva de iones por las raíces (Romero-Aranda *et al.*, 1998; Taiz y Zeiger, 2006). Otros cambios estructurales incluyen modificación de la densidad e índice estomático (Salas *et al.*, 2001; Kakani *et al.*, 2003; Benavides *et al.*, 2004), cambios en el grosor de la cutícula y paredes celulares, incremento de la succulencia, así como la disposición de cristales en los tejidos (Poblete *et al.*, 1991; Ramos *et al.*, 2004).

Existen compuestos denominados osmolitos, que protegen a las células de la desecación al mantener una alta osmolaridad intracelular (concentración osmótica) (Diccionarios Oxford-Complutense, 2000).

Muchas veces los cambios estructurales se combinan con un complejo de respuestas bioquímicas y moleculares, que abarcan la producción de proteínas de estrés y osmolitos compatibles. Se ha sugerido que tales respuestas probablemente desintoxican a las plantas del agente estresante o previenen posibles daños en su estructura. Otras veces, osmolitos producidos como prolina y glicínabetaina, varios carbohidratos y proteínas participan en el ajuste osmótico, funcionando como osmorreguladores. También, la producción de metabolitos secundarios garantiza una mayor tolerancia al factor estresante (Romero-Aranda *et al.*, 1998; Taiz y Zeiger, 2006; Flowers y Colmer, 2015)

La prolina es el osmolito acumulado más común en plantas como respuesta al estrés salino (Parida y Das, 2005). Esta protege a la membrana, organelos, proteínas y otras macromoléculas frente a daños graves debido al alto contenido de iones sodio (Na^+) y cloro (Cl^-). Funciona como restaurador radical, permite la afluencia de agua en el citosol y sirve como reserva de nitrógeno para ser utilizado durante la recuperación de tejidos (Sairam y

Tyagi, 2004; Parida y Das, 2005). El aumento del contenido de prolina bajo estrés salino en muchas plantas se debe a la síntesis de *novo* de prolina (Hsiao, 1973; Yeo, 1998; Girija *et al.*, 2002).

Por otra parte, algunas experiencias han demostrado que el calcio (Ca) puede ayudar a remediar los efectos adversos de la salinidad en plantas. El calcio es un nutriente esencial para la planta y tiene un rol en las actividades metabólicas, tal como la estabilización y mantenimiento de la integridad de las membranas, transducción de señales mediante mensajeros secundarios, el control de la actividad enzimática y la regulación del transporte iónico (White y Broadley, 2003; Martínez-Ballesta *et al.*, 2006).

Los cultivos en suelos salinos requieren de un adecuado suministro de Ca para controlar la severidad de la toxicidad iónica, particularmente en cultivos susceptibles al NaCl (Qadir *et al.*, 2001). Concentraciones elevadas de Ca^{++} en solución nutritiva mitigan los efectos adversos del cloruro de sodio (NaCl) al inhibir la toma de sodio (Na^+) y reducir la fuga del potasio (K^+) citosólico desde la membrana radical (Kaya *et al.*, 2002), reestableciendo los niveles adecuados de K^+ .

Muchas veces, las funciones fotosintéticas de las plantas se ven afectadas por la disponibilidad de agua, por ello, muchas hacen uso de mecanismos fotosintéticos especializados a la hora de mejorar su eficiencia respecto al uso de agua. Estos mecanismos son especializaciones de la fotosíntesis tradicional (C3), denominándose metabolismo C₄. El metabolismo ácido crasuláceo (CAM) es un tipo de metabolismo C₄, el cual permitió a algunas plantas adaptarse a medios donde hay baja disponibilidad de agua, mejorando la eficiencia en el uso del agua (WUE, water use efficiency) en hábitats áridos, de alta irradiación y luminosidad, que induce el cierre de los estomas previniendo la pérdida de agua vía evapotranspiración. En las plantas CAM, durante la noche los estomas se abren y

el dióxido de carbono (CO₂) es fijado principalmente como ácido málico (malato), luego durante el día, y con los estomas cerrados, el ácido málico es descarboxilado para producir CO₂, el cual es utilizado en la fotosíntesis (Cushman, 2001; Borland y Taybi, 2004).

El metabolismo CAM emplea la enzima fosfoenolpiruvato carboxilasa (PEPC'ASA) para la captura del CO₂ atmosférico y respiratorio, proporcionando así un medio rico en CO₂ para la fotosíntesis C3 mediada por la Ribulosa 1,5-bifosfato carboxilasa oxigenasa (Rubisco) y reduciendo la fotorespiración en gran parte del fotoperíodo. El cierre de estomas en períodos de luz y el cese casi completo de la transpiración, es la base para la alta WUE de las plantas CAM. Adicionalmente, la separación temporal del metabolismo CAM provee plasticidad para mejorar la ganancia de carbono en respuesta a las condiciones cambiantes del ambiente (Borland *et al.*, 2009).

El CAM se expresa en aproximadamente un 7% de especies de plantas vasculares (Winter y Smith, 1996), algunas de estas son cultivadas e incluyen a *Ananas comosus* (piña), *Opuntia ficus-indica* (tuna), *Agave sisalana* (sisal), *A. tequilana* (maguey) y *Aloe vera* (sábila), las cuales pueden lograr cerca de su máxima productividad en zonas donde la precipitación es escasa (precipitación anual aproximadamente de 300 mm) o la tasa de evapotranspiración sea tan grande que las precipitaciones sean insuficientes para cultivos tipo C3 y C4.

La piña es una monocotiledónea perenne perteneciente a la familia Bromeliaceae. Se destaca como un cultivo frutal importante de regiones tropicales y subtropicales. Posee una inflorescencia y fruto terminal, el cual es una buena fuente de vitaminas A, B y C, calcio, fósforo y hierro; el peso fresco del fruto contiene además un 75 a 83 % de azúcares y 7 a 9 % de ácido cítrico (Flath, 1980). Los cultivares de piña se sitúan sobre 60 ° de latitud y producen hasta 86 toneladas métricas (TM) de fruta por hectárea; el

valor comercial internacional del producto fresco, sin incluir la fruta procesada, fue registrado por 1,9 billones de dólares anuales en 2003 (FAOSTAT, 2005).

Mientras que los efectos de la salinidad sobre el crecimiento y los procesos metabólicos están bien documentados en otras plantas, conocimientos sobre el efecto del CaSO_4 como aliviador de este tipo de estrés, son escasos. Se conocen estudios previos en piña que se han enfocado, mayormente, en plántulas producidas *in vitro*. Chen *et al.* (2002) consiguieron que los niveles de citrato en *A. comosus* se mantenían constantes a lo largo del día, concluyendo que los niveles de citrato pueden estar relacionados a los requerimientos de intensidad y periodos de luz, según el cultivar. Bajo cultivo de tejidos, en presencia de NaCl, el crecimiento de explantes de piña se redujo, mientras que el contenido de prolina y malato se incrementó (Zain y Abdullah, 2007). También se ha observado reducción en la concentración de pigmentos fotosintéticos, incremento de azúcares solubles y prolina y mejor acumulación de N, P, K y Ca (Hamed y Ali, 2007). Para plántulas producidas *in vitro* se ha señalado que hay una actividad fotosintética tolerante a un ambiente bajo estrés salino (Villalobos *et al.*, 2012). También se ha tratado de aclimatar plántulas de piña *in vitro* a la salinidad para mejorar su tolerancia en campo a la salinidad, demostrándose que son relativamente tolerantes (Ibrahim, 2013). Un estudio determinó que la actividad específica y concentración de la enzima proteolítica bromelina variaba en función de los niveles de salinidad (Vilanova-Neta *et al.*, 2014).

Como se ha señalado, la piña es considerada un cultivo relativamente tolerante a la salinidad (Moscoso, 1995). Debido a la falta de información sobre los mecanismos y estrategias adaptativas de la piña a la salinidad, se realizó la presente investigación con el propósito de contribuir al entendimiento de los mecanismos de tolerancia al estrés salino en estas plantas en respuesta a diferentes concentraciones de cloruro de sodio (NaCl)

en presencia de calcio, así como servir de iniciativa para promover su cultivo en tierras poco productivas del estado Sucre.

METODOLOGÍA

Material vegetal

Las plántulas de piña que se utilizaron en esta investigación provinieron de hijuelos (chupones) extraídos de rizomas de plantas adultas, las cuales fueron amablemente cedidas por el piñacultor Antonio José Gómez, de la comunidad de “Pantanillo Arriba”, Cumaná, estado Sucre, Venezuela. Estas se cultivaron bajo condiciones naturales, en un sitio cerrado, en macetas, con sombra parcial, en el patio de la vivienda del autor (10°26'53.88"N, 64° 9'41.27"O).

Aclimatación y aplicación

Se seleccionaron 15 plántulas de tamaño homogéneo y morfológicamente similares, se les retiraron restos de tejido y hojas secas en la zona del rizoma. Luego se sembraron en macetas con 500 g de arena de río lavada con una capa basal de granza, ambas lavadas y estériles. Se aplicaron dos riegos semanales, o cuando fuese conveniente, con agua filtrada y solución nutritiva de Hoagland (Ross, 1974) hasta su enraizamiento; luego de dos meses se aplicaron los tratamientos. Inicialmente, luego del enraizamiento, se contaron el número de hojas y se midieron. Los tratamientos aplicados estuvieron definidos como: T0 (control: 0 mmol.m⁻³ de NaCl), T1 (Salino: NaCl a 150 mmol.m⁻³) y T2 (Salino + Ca: NaCl a 150 mmol.m⁻³ + CaSO₄ a 10 mmol.m⁻³). Durante cuatro meses, se aplicaron los tratamientos cada 12 días, con riegos cada 3 días (500 ml), primero, la aplicación del tratamiento, luego, un riego con agua filtrada y finalmente, un riego con solución nutritiva y se siguió así por cuatro meses. Cada tratamiento constó de cinco plantas por tratamiento (n = 5), distribuidas en el área de cultivo aleatoriamente.

Durante el período de estudio se observaron y fotografiaron las plantas para describir posibles cambios morfológicos que pudieran aparecer.

Parámetros morfológicos

Para la determinación de los cambios morfológicos en las hojas, al final del período de aplicación de tratamientos, se contó el número de hojas. Se promedió la longitud foliar de todas las hojas de cada planta y se contó el número de raíces.

Biomasa fresca, biomasa seca y porcentaje del contenido de agua

Al final del período de aplicación de tratamientos, todas las plantas se cosecharon y pesaron para determinar la biomasa fresca total (BFT). Después, se secaron en la estufa hasta peso constante a 70°C y se determinó la biomasa seca total (BST) mediante la suma de la biomasa seca radical (BSR) y la biomasa seca foliar (BSF).

Para determinar el porcentaje de contenido de agua, se usó la siguiente ecuación (Marschner, 1995):

$$\text{Contenido de agua (\%)} = \frac{\text{Biomasa Inicial} - \text{Biomasa Final}}{\text{Biomasa Inicial}} \times 100 =$$

Clorofila y acidez titulable

Para determinar la variación en la concentración de clorofila se homogenizaron 0,25 g.ml⁻¹ de tejido foliar fresco (de una hoja intermedia) en acetona al 80% con una pizca de carbonato de calcio (CaCO₃) para neutralizar los ácidos del tejido. El macerado se filtró y se le determinó la absorbancia a 665 nm y 649 nm en un espectrofotómetro Shimadzu.

La concentración de Clorofilas *a*, *b* y total se determinó aplicando las siguientes ecuaciones las cuales serán expresadas en mg.g⁻¹ de BF:

$$\text{Clorofila } a = 13,7 \times A_{665} - 5,76 \times A_{649}$$

$$\text{Clorofila } b = 35,6 \times A_{649} - 7,6 \times A_{665}$$

$$\text{Clorofila } (a+b) \text{ total} = \text{Chl } a + \text{Chl } b \text{ (Wintermans y De Motts, 1965)}$$

Para cuantificar la variación diurna/nocturna de acidez titulable del tejido foliar, se siguió la metodología modificada a partir de Ball *et al.* (1991) y Herrera *et al.* (2008). El último día del experimento se colectaron entre las 06:00 y 07:00 h y entre las 18:00 y 19:00 h tres discos foliares de una hoja por muestra. Estas muestras se pesaron (g de biomasa fresca), se colocaron en inyectoras con embolo y se congelaron inmediatamente hasta su uso. La savia se extrajo por centrifugación una vez descongelado el tejido, colocando cada inyectora dentro de tubos de centrifuga y centrifugándolos posteriormente a velocidad de 2000 rpm. El extracto colectado se diluyó hasta 20 ml y se determinó la acidez titulable por titulación con NaOH 10 mM hasta alcanzar un pH entre 7.0 (malato) y 8.0 (citrate) utilizando un potenciómetro. La concentración de protones por gramo de tejido fresco ($\mu\text{mol H}^+ \cdot \text{g}^{-1}$) se calculó a partir de la siguiente expresión:

$$\mu\text{mol H}^+/\text{g} = \frac{\text{X ml (NaOH agregados para pH 7 y 8) x 10 mM}}{\text{g biomasa fresca}}$$

Los resultados se expresaron como ΔH^+ ($\mu\text{mol H}^+ \cdot \text{g}^{-1}$), a partir de la diferencia de la acidez titulable diurna/nocturna (Silvera *et al.*, 2005).

Proteínas, carbohidratos y prolina en hoja

Proteínas

Para determinar el contenido de proteínas, se cosechó tejido foliar fresco (de una hoja intermedia), éste se seccionó, pesó y congeló.

Para detectar los cambios en las concentraciones de proteínas se prepararon extractos crudos ($0,25 \text{ g} \cdot \text{ml}^{-1}$) de las muestras de cada tratamiento con NaOH 0,1N, luego se centrifugaron, la cuantificación de las proteínas se realizó en el sobrenadante por el método de Lowry *et al.* (1951) usando como estándar una solución de suero de albúmina bovina (BSA) ($1 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$).

Carbohidratos

Para la determinación del contenido de carbohidratos, se cosechó tejido foliar fresco, proveniente de una hoja intermedia, el cual luego se seccionó, se pesó y se congeló.

La estimación de los carbohidratos se hizo a partir de los azúcares totales, en los extractos preparados para proteínas, con el método Fenol-Sulfúrico de Dubois *et al.* (1956). Para ello, se mezclaron 2 ml del sobrenadante con 2 ml de fenol al 5% en tubos digestores, en un baño helado. A los tubos se les añadió 4 ml de H₂SO₄, se dejaron reposar por 15 min y se determinó su absorbancia a 490 nm. La concentración de azúcares totales se determinó utilizando glucosa (100 µg.ml⁻¹) como estándar.

Prolina

Se determinó el contenido de prolina a partir de tejido foliar fresco, proveniente de una hoja intermedia, el cual luego de cosechado se seccionó, se pesó y se congeló.

El contenido de prolina se determinó mediante el método de ninhidrina, como lo describen Ghoulam *et al.* (2002). Para ello, se tomaron 0,2 ml de los sobrenadantes preparados para proteínas y se diluyeron con 0,3 ml de metanol puro, luego se agregó a cada uno 0,5 ml de una mezcla de ácido acético glacial y ácido ortofosfórico (fosfórico) 6 mol.L⁻¹ (3:2 V/V) y 25 mg de ninhidrina; seguidamente se incubaron a 100°C por 1 h, luego sufrieron un shock térmico en un baño de hielo, para finalmente agregarles 2,5 ml de tolueno. La mezcla se agitó vigorosamente y la absorbancia de la fase superior se determinó a 528 nm. El contenido de prolina se obtuvo usando una curva estándar de prolina (60 µg.ml⁻¹).

Análisis estadístico

Los resultados de los estudios morfológicos y fisiológicos fueron contrastados a través de un ANOVA doble con cinco replicas (n=5) por tratamiento. De existir diferencias en la variable estudiada con respecto al

factor (concentración de NaCl), se aplicó una prueba *a posteriori* de Duncan (Sokal y Rohlf, 1979).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las plantas de piña (*Ananas comosus*) evaluadas en esta investigación tuvieron un desarrollo normal, formación constante de hojas y crecimiento continuo.

El número de hojas (Tabla 1) no presentó diferencias significativas para el factor estudiado ($P=0,7672$; $p>0,05$). Del mismo modo, el número de raíces no presentó diferencias significativas entre tratamientos ($P=0,9055$; $p>0,05$), sin embargo, las plantas del tratamiento no salino (Fig. 1) tuvieron un mejor desarrollo que las demás, con hojas de mayor turgencia y un color más verde. Las plantas del tratamiento salino produjeron hojas de menor tamaño respecto al tratamiento no salino, con una coloración verde pálida y deshidratadas. Las plantas del tratamiento salino con calcio produjeron las hojas de menor tamaño de la investigación, con coloración verde pálida y deshidratadas. No se observaron síntomas como marchitez ni clorosis debido a los tratamientos. En cuanto al desarrollo radical, todas las plantas produjeron raíces largas y sanas. Las plantas del tratamiento salino con calcio produjeron el mayor número de raíces.



Figura 1. Plantas de *Ananas comosus* sometidas a tres tratamientos salinos por 4 meses. T0 (control: 0 mmol.m^{-3} de NaCl), T1 (Salino: NaCl a 150 mmol.m^{-3}) y T2 (Salino + Ca: NaCl a 150 mmol.m^{-3} + CaSO_4 a 10 mmol.m^{-3}).

Tabla 1. Número de hojas, longitud foliar total y número de raíces de *Ananas comosus* sometida a tres tratamientos salinos por 4 meses.

Tratamiento	Número de hojas	Longitud foliar total (cm)	Número de raíces
T0	20,8 ± 3,27	19,29 ± 4,55	38,4 ± 14,76
T1	22,2 ± 6,6 ns	16,8 ± 2,85 ns	41,2 ± 8,6 ns
T2	20,2 ± 4,76 ns	15,66 ± 4,45 ns	41,8 ± 14,2 ns

T0 (control: 0 mmol.m⁻³ de NaCl), T1 (Salino: NaCl a 150 mmol.m⁻³) y T2 (Salino + Ca: NaCl a 150 mmol.m⁻³ + CaSO₄ a 10 mmol.m⁻³). Los valores representan las medias y la desviación estándar (X ± ES, n=5), ns = no significativo.

La disminución en el número de hojas en todos los tratamientos, incluido el no salino, tal vez se debió a procesos normales de senescencia, sin embargo, tal disminución no fue significativa.

Estos resultados coinciden con los de Elhag y Elzain (2012), donde el número de hojas de explantes de piña sometidos a altas concentraciones de NaCl (120 mMol/L), presentaron disminución, pero esta no fue significativa.

Contrario a lo que reseña esta investigación, García (2008) observó que *Aloe vera* tratada con NaCl disminuyó el número total de hojas. Por otra parte, García y Medina (2009), encontraron que, al tratar plantas de caña de azúcar con NaCl y suplementar con CaCl₂, el número de hojas disminuyó.

La longitud total de las hojas no tuvo variación en ninguna de las concentraciones estudiadas (Tabla 1). Quintana *et al.* (2012), encontraron que agrupaciones de células esclerénquimáticas y el largo de los haces vasculares en piña sometidas a estrés salino no variaron cuando se comparaba un tratamiento testigo con tratamientos medianamente salinos con CaCl₂, lo cual se podría relacionar con la no variación de la longitud foliar.

Otros estudios realizados en piña en condiciones *in vitro* han demostrado que a medida que los niveles de salinidad aumentaban, menor era la longitud foliar, debido a que la sal actuaba como inhibidor de la división celular, expansión foliar y número de hojas de las plantas (Parida y Das, 2005; Zain y Abdullah, 2007).

Hamed y Ali (2007) e Ibrahim (2013) encontraron que, en presencia de salinidad, el número de raíces de plantas de piña *in vitro*, era menor que en ausencia de la misma, lo cual difiere de lo aquí encontrado.

Las plantas CAM, específicamente las pertenecientes a la familia bromeliaceae, tienen la capacidad de detener la producción de raíces absorbentes para evitar el ingreso de sal, inclusive algunas otras, como las cactáceas, sacrifican sus raíces absorbentes en suelos salinos y forman nuevas en temporada de lluvia, cuando los suelos son lavados (Lüttge, 2010), pudiendo explicar esto, la no diferencia del número de raíces entre tratamientos.

La biomasa fresca total (BFT) no presentó diferencias significativas entre tratamientos ($P=0,9599$; $p>0,05$; Tabla 2). La biomasa seca foliar (BSF) no varió significativamente entre tratamientos ($P=0,8089$; $p>0,05$). De igual forma, la biomasa seca radical (BSR) no tuvo diferencias significativas entre tratamientos ($P=0,8224$; $p>0,05$). La biomasa seca total (BST) no difirió significativamente entre tratamientos ($P=0,8025$; $p>0,05$). El contenido de agua no varió entre tratamientos ($P=0,9467$; $p>0,05$; Tabla 3).

Tabla 2. Valores de biomasa y porcentaje de contenido de agua de *Ananas comosus* sometida a tres tratamientos salinos por 4 meses.

Trat.	BFT	BSF	BSR	BST	% C. Agua
T0	88,08 ± 35,2	19,7 ± 5,39	8,2 ± 1,05	27,95 ± 6,2	65,7 ± 9,1
T1	92,45 ± 28,7 ns	22,3 ± 4,6 ns	8,8 ± 2 ns	31,1 ± 6,5 ns	64,9 ± 6,03 ns
T2	87,05 ± 30,7 ns	22,08 ± 9,65 ns	8,55 ± 1,16 ns	30,6 ± 10,76 ns	64,2 ± 6,55 ns

(Trat= Tratamiento. BFT= Biomasa fresca total. BSF= Biomasa seca foliar. BSR= Biomasa seca radical. BST= Biomasa seca total). T0 (control: 0 mmol.m⁻³ de NaCl), T1 (Salino: NaCl a 150 mmol.m⁻³) y T2 (Salino + Ca: NaCl a 150 mmol.m⁻³ + CaSO₄ a 10 mmol.m⁻³). Los valores representan las medias y la desviación estándar ($X \pm ES$, n=5), ns = no significativo.

Pérez *et al.* (2003), señalaron que la salinidad no afectó la biomasa fresca en plantas de piña, lo cual coincide con lo encontrado en este trabajo. A diferencia de estos resultados, Zain y Abdullah (2007) encontraron que a

salinidad media ($65 - 200 \text{ mmol.m}^{-3}$), la biomasa seca aumentó con respecto al control.

Los resultados encontrados para los parámetros morfológicos, pueden respaldar la idea de que la piña, a la concentración probada, no vio afectada su productividad, tal vez por tener carácter de resistencia frente a ésta concentración o por respuestas y/o mecanismos fisiológicos propias de la especie.

Para cuantificar la acumulación de citrato, extractos foliares se titularon a pH 8 y se evidenciaron diferencias significativas, con mayor valor en el tratamiento salino (T1), con respecto a los otros tratamientos; el tratamiento salino con calcio (T2), tuvo un valor intermedio ($P=0,049$; $p>0,05$; Fig. 2). La acumulación de malato no presentó diferencias significativas entre tratamientos ($P=0,9092$; $p>0,05$; Fig. 2).

Se ha demostrado que la acumulación de citrato se da en algunas especies en presencia de estrés hídrico, ya que es más ventajoso para el ahorro energético que el malato, evitando la pérdida de ATP (Winter y Smith, 1996; Chen *et al.*, 2002), puede que esto coincida con lo aquí encontrado.

El citrato puede contribuir significativamente a la distribución diurna y nocturna del carbono, lo cual se hace importante bajo estrés hídrico severo. El citrato es también conocido por ser una sustancia búfer efectiva. Su acumulación vacuolar por su parte permite la acumulación considerable de los ácidos totales (acidez titulable) mientras que el control del pH vacuolar es mantenido (Lüttge, 2001).

A diferencia de lo encontrado en esta investigación, Zain y Abdullah (2007), consiguieron que el contenido de malato disminuyó a concentraciones medias de salinidad ($\sim 135 \text{ mmol.m}^{-3}$ de NaCl). Bajo contenido de malato en las plantas indica una alta tasa de descarboxilación a partir del CO_2 interno para actividades del CAM (Borland y Taybi, 2004), que,

en condiciones de estrés, como la aquí evaluada, son las presentadas por las células.

La asimilación de CO_2 depende de la actividad nocturna de la enzima Fosfoenol Piruvato Carboxilasa (PEPC'ASA), la cual fija el CO_2 al fosfoenolpiruvato (PEP), para formar oxaloacetato (OAA) o Ácido Oxaloacético. El OAA es reducido rápidamente a malato por la Malato deshidrogenasa (MDH), el cual es transportado y almacenado en las grandes vacuolas como ácido málico, haciendo que la acidez cambie. Luego, en el siguiente período de iluminación, el CO_2 es asimilado en los cloroplastos (Andrade *et al.*, 2007).

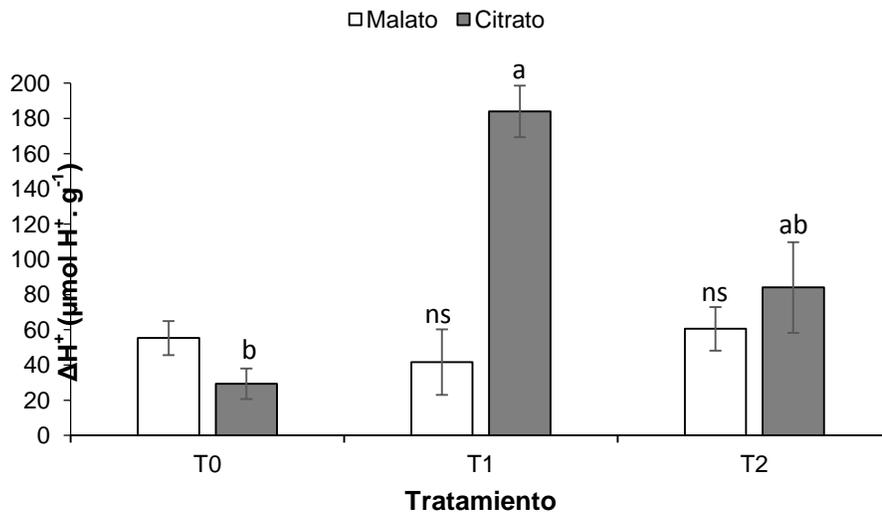


Figura 2. Acidez titulable (ΔH^+) de hojas de *Ananas comosus* sometida a tres tratamientos salinos por 4 meses. T0 (control: 0 mmol.m^{-3} de NaCl), T1 (Salino: NaCl a 150 mmol.m^{-3}) y T2 (Salino + Ca: NaCl a 150 mmol.m^{-3} + CaSO_4 a 10 mmol.m^{-3}). Los valores representan las medias y la desviación estándar ($\bar{X} \pm \text{ES}$, $n=5$), ns = no significativo. Las letras sobre las barras indican diferencias entre los tratamientos, según Duncan.

El hecho de que la acidez titulable para cuantificar los niveles de malato, no haya sido afectada significativamente (Fig. 2), refleja que el

tratamiento salino impuesto no cambió el patrón de asimilación nocturna de CO₂ en las hojas de *A. comosus*.

El contenido de clorofila *a* (Fig. 3) presentó diferencias significativas entre tratamientos, siendo menor en T1 ($P=0,030$; $p>0,05$). Similarmente, el contenido de clorofila *b* también varió significativamente entre tratamientos ($P=0,0006$; $p>0,05$), con un menor contenido en T1. La clorofila total presentó diferencias significativas entre las concentraciones probadas, siendo menor en T1 ($P=0,0048$; $p>0,05$).

La disminución en el contenido de pigmentos de plantas expuestas a niveles altos de NaCl (150 mmol) se ha encontrado en numerosos estudios (Singh y Dubey, 1995; González y Ramírez, 1998; Delfine *et al*, 1999; Shabala *et al*, 2005). Por otra parte, semejante reducción en el contenido de pigmentos (clorofila *a* y *b*) bajo condición de estrés salino se observó en varias especies de plantas como las mencionadas por Fayek *et al*. 2005; Mualla, 2001 y 2005, en oliva y banana comparados con un control en fase de multiplicación. Este efecto se debe principalmente a que la entrada de los iones tóxicos interrumpe el metabolismo celular. También la degradación de la clorofila y destrucción de los cloroplastos se ha señalado como una causa de la degeneración fotosintética que afecta a las plantas estresadas (Ashraf, 1989; Everard *et al.*, 1994; Castrillo y Trujillo, 1994). Esto va acompañado por un aumento de la actividad de la enzima clorofilasa, que afecta la síntesis/degradación de la clorofila (Spyropoulus y Maurommatis, 1998). La reducción de la biosíntesis de clorofila puede ser una respuesta aclimatativa al estrés y no un efecto desfavorable en sí, en el sentido de economizar energía y disminuir la captación de energía luminosa para evitar estrés fotooxidativo (Silveira *et al*, 2009).

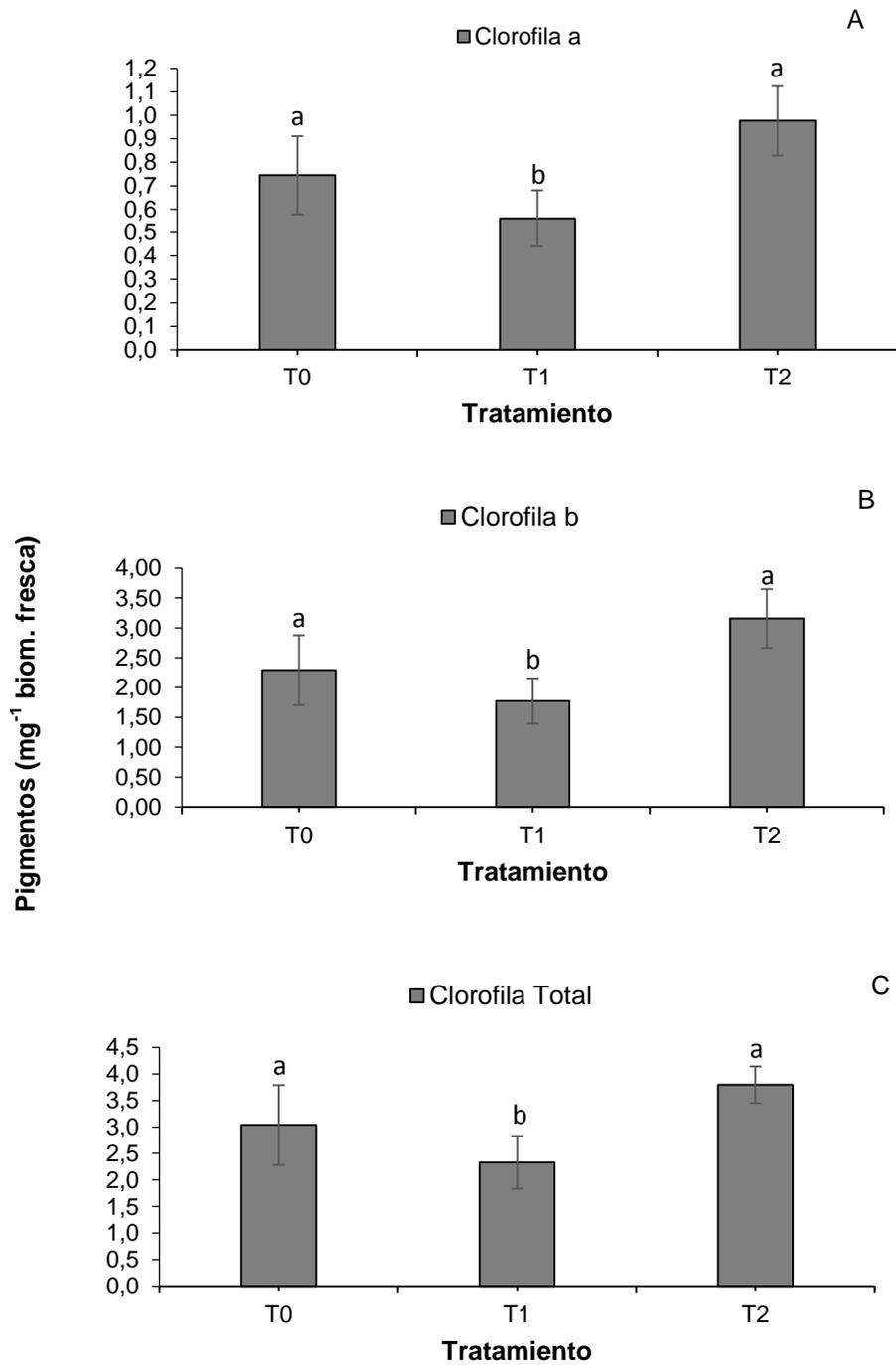


Figura 3. Contenido de pigmentos (A, B, C) de *Ananas comosus* sometida a tres tratamientos salinos por 4 meses. T0 (control: 0 mmol.m⁻³ de NaCl), T1 (Salino: NaCl a 150 mmol.m⁻³) y T2 (Salino + Ca: NaCl a 150 mmol.m⁻³ + CaSO₄ a 10 mmol.m⁻³). Los valores representan las medias y la desviación

estándar ($X \pm ES$, $n=5$). Letras distintas sobre las barras indican diferencias entre los tratamientos, respecto al no salino, según Duncan.

La disminución en el contenido de clorofila en una planta bajo estrés, se debe a la destrucción de pigmentos y la inestabilidad del complejo pigmento-proteína (Levitt, 1980). Una de las causas asociadas a la degradación o destrucción de pigmentos es la salinidad. La reducción del contenido de pigmentos de la planta también puede deberse a la reducción en la absorción de algunos iones como magnesio (Mg) y hierro (Fe), los cuales están involucrados en la formación de cloroplastos bajo condición de estrés y/o como respuesta al aumento de inhibidores del crecimiento como etileno y ácido abscísico (Singer et al. 1993; El-Bagoury et al. 1999).

El contenido de proteínas no presentó diferencias significativas para el factor estudiado ($P=0,2728$; $p>0,05$; Fig. 4).

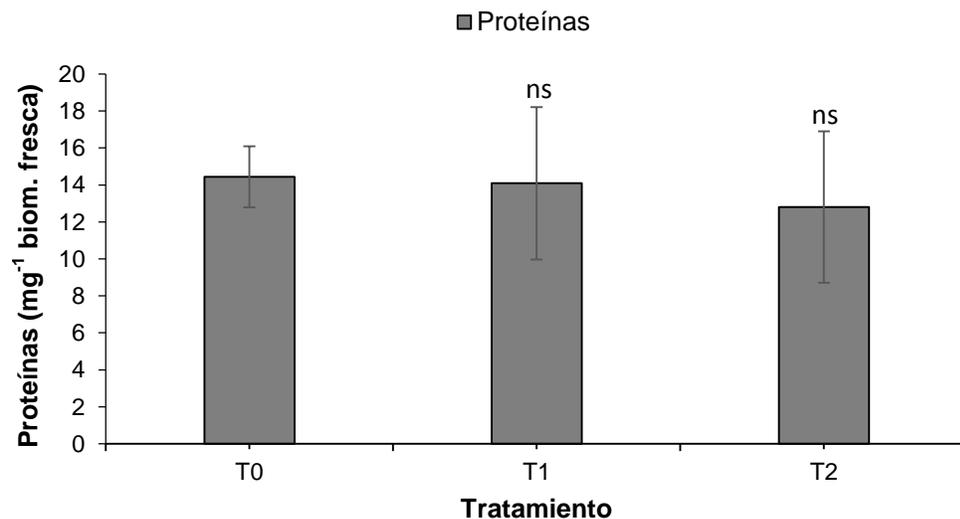


Figura 4. Contenido de proteínas de *Ananas comosus* sometida a tres tratamientos salinos por 4 meses. T0 (control: 0 mmol.m⁻³ de NaCl), T1 (Salino: NaCl a 150 mmol.m⁻³) y T2 (Salino + Ca: NaCl a 150 mmol.m⁻³ + CaSO₄ a 10 mmol.m⁻³). Los valores representan las medias y la desviación estándar ($X \pm ES$, $n=5$), ns = no significativo.

En algunas ocasiones ha sido reseñado que las plantas pueden combinar ciertos cambios estructurales con un complejo de respuestas bioquímicas y moleculares, que abarcan la producción de proteínas de estrés y osmolitos compatibles. Se ha sugerido que tales respuestas probablemente desintoxican a las plantas del agente estresante o previenen posibles daños en su estructura. En base a esto, pudiera esperarse que bajo la condición de estrés salino aplicada en este estudio, las plantas tratadas mostraran cierto aumento en el contenido de proteínas antiestrés, o bien que mostraran una disminución en el contenido de proteínas asociada a una proteólisis debida a un desbalance de nutrientes (Cavagnaro *et al.*, 2006; Song *et al.*, 2006) propulsor a su vez de un desequilibrio de los nutrientes involucrados en la síntesis de proteínas y en la fotosíntesis, lo cual puede causar inhibición de estos procesos (Vieira-Santos *et al.*, 2001), así como la degradación de pigmentos clorofila *a* y clorofila *b* (Di Martino *et al.*, 2003).

Así, ha sido reportado, por ejemplo, que un aumento en el contenido de proteínas en plantas estresadas tiene funciones protectoras, debido a que las nuevas proteínas compensan las proteínas desnaturalizadas, reparan daños, mantienen la integridad celular, ayudan en la síntesis de sustancias osmoprotectoras (prolina, pinitol y otros osmolitos orgánicos), excretan iones tóxicos o previenen su entrada a las partes sensibles de la planta (Lüttge *et al.* 1993, García *et al.* 1997, Hauser y Horie 2010), por ello, los resultados aquí encontrados pueden indicar que estas plantas, posean otros mecanismos para conllevar las situaciones de estrés, como pudiera ser la degradación de carbohidratos.

Muchas proteínas inducidas por la sal han sido identificadas y clasificadas en dos grupos: proteínas de estrés salino, acumuladas solo debido al estrés salino, y proteínas asociadas al estrés, que responden a otros factores (Murillo-Amador *et al.*, 2014), por ello, es posible que en esta investigación, al medirse el contenido total de proteínas en comparación con

el control, no se presentaron diferencias significativas ya que el stock de proteínas se mantuvo, sin la aparente presencia de proteínas asociadas a estrés salino.

En el contenido de carbohidratos, respecto al factor concentración, existieron diferencias significativas ($P=0,0006$; $p>0,05$), siendo mayor en T2 y T0 en el muestreo final y menor en T1 (Fig. 5).

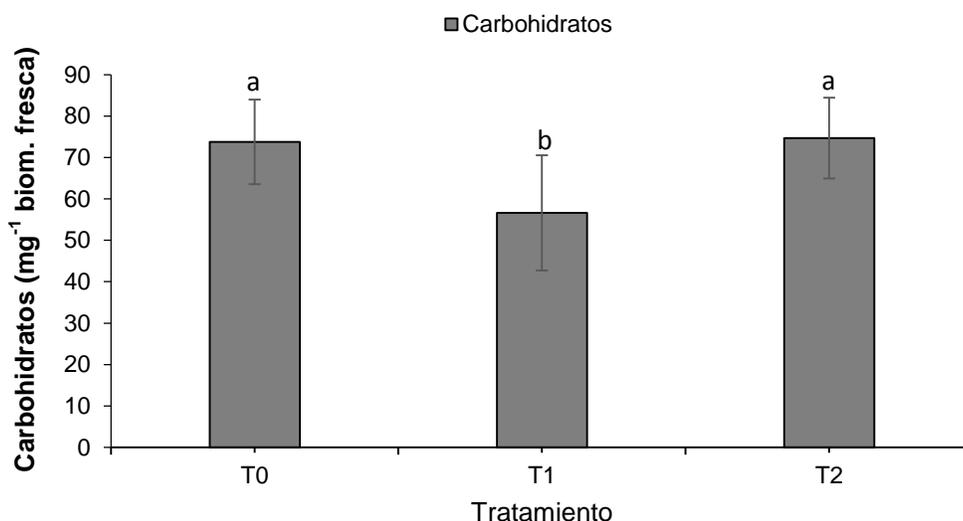


Figura 5. Contenido de carbohidratos de *Ananas comosus* sometida a tres tratamientos salinos por 4 meses. T0 (control: 0 mmol.m^{-3} de NaCl), T1 (Salino: NaCl a 150 mmol.m^{-3}) y T2 (Salino + Ca: NaCl a 150 mmol.m^{-3} + CaSO_4 a 10 mmol.m^{-3}). Los valores representan las medias y la desviación estándar ($X \pm \text{ES}$, $n=5$). Letras distintas indican diferencias, según Duncan.

Se ha demostrado que las células expuestas a estrés osmótico tienden a redireccionar el carbono y usarlo como osmorregulador mediante la acumulación de solutos comunes, azúcares inductores, aminoácidos, ácidos orgánicos e iones (especialmente K) y otros osmolitos de protección metabólica llevando a la retención de agua (Hanafy *et al.*, 2002).

Bajo estrés por sequía y/o salinidad algunas plantas pueden responder degradando o acumulando carbohidratos. (Soussi *et al.*, 1999; Jin

et al., 2007; Nerd y Nobel, 2008; Zheng et al., 2009). Ceusters et al. (2009) concluyeron que plantas CAM realizan un uso flexible del pool de carbohidratos almacenados durante la aclimatación y recuperación de sequía severa manteniendo el balance energético y el carbono presente en las hojas, por ello, se puede decir que la salinidad ocasionó la degradación de los carbohidratos en T1.

En cuanto al contenido de prolina, existieron diferencias significativas en el factor estudiado ($P=0,00001$; $p>0,05$; Fig. 6), ya que éste disminuyó en los dos tratamientos (T1 y T2) al compararlos con T0.

Estos resultados son opuestos a los conseguidos en investigaciones realizadas en explantes de piña *in vitro* e *in vivo* (Zain y Abdullah, 2007; Hamed y Ali, 2007), donde la salinidad, como factor estresante, aumentó el contenido de prolina.

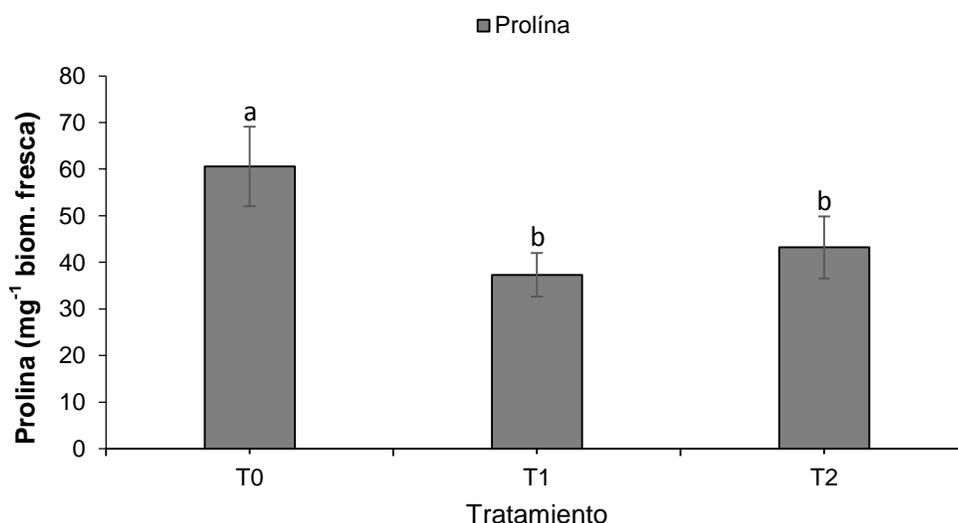


Figura 6. Contenido de prolina de *Ananas comosus* sometida a tres tratamientos salinos por 4 meses. T0 (control: 0 mmol.m⁻³ de NaCl), T1 (Salino: NaCl a 150 mmol.m⁻³) y T2 (Salino + Ca: NaCl a 150 mmol.m⁻³ + CaSO₄ a 10 mmol.m⁻³). Los valores representan las medias y la desviación estándar ($X \pm ES$, n=5). Letras distintas indican diferencias entre tratamientos, según Duncan.

La acumulación de prolina bajo estrés salino se puede referir a genes que controlan dicha acumulación, denominados “genes de tolerancia osmótica”, el cual gobierna la producción de moléculas como la betaína y la prolina que protegen las células y sus constituyentes frente a la deshidratación. La prolina es considerada como el osmolito protector del citoplasma necesario para la adaptación al estrés (Maharix, 1991).

Se trazó como meta en esta investigación, contrastar el efecto teóricamente dañino de la salinidad por cloruro de sodio con un remediador, previamente estudiado, como lo es el calcio. Los resultados no fueron los esperados en muchas de las variables estudiadas, como en los estudios morfológicos, donde el número de hojas, biomasa fresca, biomasa seca y contenido de agua no variaron significativamente al compararse los tres tratamientos.

En la evaluación del funcionamiento del aparato fotosintético, la variación de acidez titulable del citrato mostró incrementos en el tratamiento salino, del resto se mantuvo indistinto en los demás. El contenido de pigmentos disminuyó en el tratamiento salino, mientras que en el tratamiento con calcio se mantuvo e incluso en algunos casos, como en la clorofila total, fue mayor que el control, sin embargo, la menor disminución se dio en el tratamiento con calcio. El contenido de carbohidratos, en plantas sometidas a estrés salino, disminuyó, pudiendo deberse esto a la degradación de los mismos. Esto pudiera corroborar la hipótesis del calcio como remediador del aparato fotosintético.

Las otras variables fisiológicas evaluadas como el contenido de proteínas y prolina, no tuvieron las respuestas esperadas. En condiciones de estrés, el contenido de proteínas puede variar, sin embargo, los tratamientos probados fueron similares al control. De igual forma, el contenido de prolina no fue el esperado, ya que, respecto al control, en ambos tratamientos disminuyó.

En los parámetros morfológicos no se pudo evaluar el efecto del sulfato de calcio, esto debido a que no ninguno de estos parámetros mostró respuesta negativa frente a la aplicación de los tratamientos.

En cuanto a la evaluación de los parámetros fisiológicos, que sirvieron para evaluar el funcionamiento del aparato fotosintético, el sulfato de calcio tuvo el efecto remediador esperado. Mientras que, en los demás parámetros, fue indistinto su uso o no tuvo el efecto esperado.

Con los resultados aquí encontrados, se puede concluir que el cultivo de la piña es viable en cualquier zona del estado Sucre, inclusive en zonas áridas y con presencia de sal en el suelo, como lo es la Península de Araya, dado a la tolerancia de la misma ante el estrés salino y la falta de agua.

CONCLUSIONES

Los parámetros morfológicos no presentaron cambios al someterse a estrés salino respecto al control.

Los valores de biomasa y contenido relativo de agua no tuvieron cambios significativos al someterse a estrés salino, respecto al control.

El estrés salino afectó la acumulación de citrato respecto al control, aumentándola, mientras que en el tratamiento con calcio tuvo un valor intermedio; la acumulación de malato se mantuvo en todos los tratamientos. El contenido de clorofila disminuyó en el tratamiento salino, sin embargo, en el tratamiento con calcio se mantuvo similar al control.

El contenido de proteínas no varió en los tratamientos probados, pudiendo no ser éste parámetro, una forma de conllevar el estrés salino. El contenido de carbohidratos disminuyó debido a la degradación como respuesta al estrés salino, mientras que, en el tratamiento con calcio, presentó similar comportamiento que el control. La prolina disminuyó en todos los tratamientos respecto al control, siendo ésta una respuesta inesperada.

En parámetros morfológicos, el efecto del sulfato de calcio no pudo ser evaluado, ya que *Ananas comosus* mostró tolerancia ante la concentración salina probada. En la evaluación del aparato fotosintético (acidez titulable, clorofila y contenido de carbohidratos) tuvo un efecto remediador para los efectos de la salinidad. En los otros parámetros fisiológicos, para proteínas, no pudo ser evaluado su efecto, ya que aparentemente *Ananas comosus* utiliza otros mecanismos para conllevar situaciones de estrés, y en prolina, los resultados inesperados no permitieron evaluar el efecto del sulfato de calcio.

RECOMENDACIONES

Continuar esta investigación utilizando mayores concentraciones salinas en los tratamientos, además de un control negativo para cada uno de los tratamientos.

Realizar investigaciones similares en períodos de tiempo suficiente para que se dé el ciclo de vida completo de *A. comosus*. Realizar los mismos estudios fisiológicos en período de floración y producción de frutos.

Considerar variables anatómicas en futuras investigaciones.

Estudiar más variedades de *A. comosus*.

Probar concentraciones distintas de CaSO_4 , con el fin de obtener mejores resultados.

Aumentar el número de muestras por tratamientos para obtener resultados más precisos.

Realizar pruebas similares en plantas con menor tiempo de vida (reproducción de soma clones – *in vitro*), con el fin de tener efectos más notorios.

BIBLIOGRAFÍA

- Andrade, J.; de la Barrera, E.; Reyes-García, C.; Ricalde, M.; Vargas-Soto, G. y Cervera, J. 2007. El metabolismo ácido de las crasuláceas: diversidad, fisiología ambiental y productividad. *Bol. Soc. Bot. Mx.*, 81:37-50.
- Ashraf, M. 1989. The effect of NaCl on water relations, chlorophyll, and protein and proline contents of two cultivars of blackgram (*Vigna mungo* L.). *Plant. Soil*, 119: 205-210.
- Ball, E.; Hann, J.; Kluge, M.; Lee, H.; Lüttge, U.; Orthen, B.; Popp, M.; Schmitt, A. y Ting, I. 1991. Ecophysiological compartment of the tropical CAM-tree *Clusia* in the field. Growth of *Clusia rosea* Jacq. On St John, US Virgin Island, Lesser Antilles. *New. Phytol.*, 117: 473-481.
- Barceló, J.; Nicolás, G.; Sabater, B. y Sánchez, R. 2005. *Fisiología Vegetal*. Pirámide. Madrid, España.
- Benavides, A.; Dávila, R.; Rincón, F.; Ramírez, H. y Fuentes, L. 2004. Respuesta de la densidad estomática y de células tabulares de maíces bajo estrés por NaCl. Disponible en: http://uaaa.mx/dirinv/result_pio4/memoria_2004/ingagrícola/abenavidesmendoza2.doc. En línea (Consultado en Julio, 2015).
- Borland, A.; Griffiths, H.; Hartwell, J. y Smith, J. 2009. Exploiting the potential of plants with crassulacean acid metabolism for bioenergy production on marginal lands. *Journal of Experimental Botany* 60: 2879–2896.
- Borland, A. y Taybi, T. 2004. Synchronization of metabolic processes in plants with crassulacean acid metabolism. *J. Exp. Bot.*, 55: 1255-1265.
- Castrillo, M. y Trujillo, I. 1994. Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase activity and chlorophyll and protein contents in two cultivars of French bean plants under water stress and rewatering. *Photosynthetica*, 30: 175-181.
- Cavagnaro, T.; Jackson, L.; Six, J.; Ferris, H.; Goyal, S.; Asami, D. y Scow, K. 2006. Arbuscular mycorrhizas, microbial communities, nutrient availability, and soil aggregates in organic tomato production. *Plant, Soil*, 282: 209-225.
- Ceusters, J.; Borland, A. y De Proft, M. 2009. Drought adaptation in plants with crassulacean acid metabolism involves the flexible use of different storage carbohydrate pools. *Plant. Sign. Beh.*, 4: 212–214.
- Chen, L.; Lin, Q. y Nose, A. 2002. A comparative study on diurnal changes in metabolite levels in the leaves of three crassulacean acid metabolism

- (cam) species, *Ananas comosus*, *Kalanchoe daigremontiana* and *K. pinnata*. *J. Exp. Bot.*, 53: 341-350.
- Cushman, J. 2001. Crassulacean acid metabolism; a plastic photosynthesis adaptation to arid environments. *Plant Physiol.*, 127: 1439-1448.
- Delfine S.; Alvino, A.; Villani, M. C. y Loreto, F. 1999. Restrictions to CO² conductance and photosynthesis in spinach leaves recovering from salt stress. *Plant. Physiol.*, 119: 1101–1106.
- Diccionarios Oxford-Complutense. 2000. *Diccionario de ciencias*. Editorial Complutense. Madrid, España.
- Di Martino, C.; Sebastiano, D.; Pizzuto, R.; Loreto, F. y Fuggi, A. 2003. Free amino acid and glycine betaine in leaf osmoregulation of spinach responding to increasing salt stress. *New. Phyt.*, 158: 455-463.
- Dubois, M.; Gilles, K.; Hamilton, J.; Robers, P. y Smith, F. 1956. Colorimetric method for the determination of sugars and related substances. *Anal. Biochem.*, 28: 350-356.
- El-Bagoury, H.; Hossni, Y.; El-Fantawy, A.; Shehata, M. y Asmaael, R. 1999. Effect of sea water irrigation on growth and chemical composition of some *Casuarina equisetifolia* L. seedlings. *Egypt. J. Hort.*, 16: 47-57.
- Elhag, A. y Elzain, H. 2012. Sodium chloride tolerance of pineapple (*Ananas comosus* L. MIRRL.) *in vitro*. *J. App. Agric. Resea.*, 4: 105-110.
- Everard, J.; Gucci, R.; Kann, S.; Flore, J. y Loescher, W. 1994. Gas exchange and carbon partitioning in the leaves of celery (*Apium graveolens* L.) at various levels of root zone salinity. *Plant. Physiol.*, 106: 281–292
- FAOSTAT. 2005. Recent developments in agricultural commodity markets. Committee on Commodity Problems, Sixty-fifth Session, Rome, Italy, 11–13 April 2005. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/meeting/009/j4528e.htm>. En línea (Consultado en agosto, 2015).
- Fayek, M.; El-Sayed, M.; Abd-El-Zaher, M. y Al-Darweesh, M. 2005. *In vitro* selection of olive for salinity tolerance using somatic embryogenesis and gamma mutagenesis. 3rd conference on recent technologies in agriculture, Cairo University, Egypt.
- Flath, R. 1980. Pineapple. En: *Tropical and subtropical fruits*. Ediciones Nagy and Shaw. Westport, Connecticut, USA.
- Flowers, T. y Colmer, D. 2015. Plant salt tolerance: adaptations in halophytes. *Ann. Bot.*, 115: 327.

- García, A.; Engler, J.; Lyer, S.; Gerats, T.; Van, Montagu, M. y Caplan, A. 1997. Effects of osmoprotectants upon NaCl stress in rice. *Plant. Physiol.*, 115: 159-169.
- García, M. 2008. Crecimiento y desarrollo de *Aloe vera* (L.) Burm. f. Trabajo de pregrado. Departamento de Biología, Universidad de Oriente, Cumaná.
- García, M. y Medina, E. 2009. Acumulación de iones y solutos orgánicos en dos genotipos de caña de azúcar, estresados con sales simples o suplementada con calcio. *Bioagro*, 21: 3-14.
- Ghoulam, C.; Foursy, A. y Fares, K. 2002. Effects of salt stress on growth, inorganic ions and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in five sugar beet cultivars. *Env. Exp. Bot.*, 47: 39-50.
- Girija, C.; Smith, B. y Swamy, P. 2002. Interactive effects of sodium chloride and calcium chloride on the accumulation of proline and glycinebetaine in Peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Env. Exp. Bot.*, 47: 1-10.
- González, L. y Ramírez, R. 1998. Correlation of some varietal characteristics with grain yield and stress tolerance index under saline conditions. *IRRI. Notes.*, 23: 19-20.
- Hale, M. y Orcutt, D. 1987. *The physiology of plants under stress*. Ediciones John Wiley and sons. New York, USA.
- Hamed, A. y Ali, E. 2007. Effect of different sea water concentrations on growth parameters of pineapple (*Ananas comosus*) *in vitro* and *in vivo*. *J. App. Sci. Res.*, 3: 713-722.
- Hanafy, A.; Higazy, M.; El-Shaley, Y. y Mousa, S. 2002. Effect of salinity, silicon and proline on the growth, yield and chemical composition of wheat plant, proc. 2nd congress on recent technologies in agriculture, Cairo University, Egypt.
- Hauser, F. y Horie, T. 2010. A conserved primary salt tolerance mechanism mediated by HKT transporters: a mechanism for sodium exclusion and maintenance of high K^{+}/Na^{+} ratio in leaves during salinity stress. *Plant. Cell. Environ.*, 33: 552-565.
- Herrera, A.; Ballestrini, C. y Tezara, W. 2008. Nocturnal sap flow in the C3-CAM species, *Clusia minor*. *Trees. Struct. Funct.*, 22: 491-497.
- Hsiao, T. 1973. Plant responses to water stress. *Ann. Rev. Plant. Physiol.*, 24: 519-70.
- Ibrahim, M. 2013. Effect of NaCl stress on pineapple plant (*Ananas comosus* Merr. (L.) cv. Del Monte) *in vitro*. *Intl. J. Farm. Alli. Sci.*, 2: 206-210.

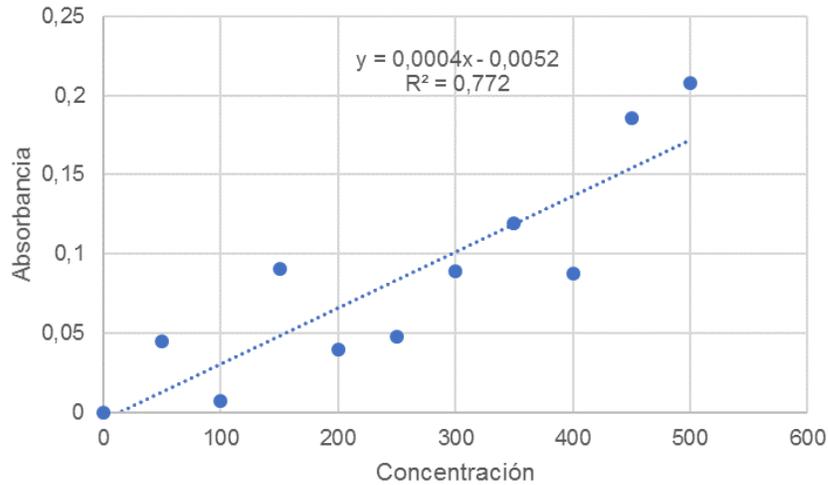
- Jin, Z.; Wang, C.; Liu, Z. y Gong, W. 2007. Physiological and ecological characters studies on *Aloe vera* under soil salinity and seawater irrigation. *Proc. Biochem.*, 42: 710-714.
- Kakani, V.; Reddy, K.; Zhao, D. y Mohamed, A. 2003. Effects of ultraviolet-b radiation on cotton (*Gossypium hirsutum* L.) morphology and anatomy. *Ann. Bot.*, 91: 817-826.
- Kaya, M.; Ciftci, C. y Kaya, M. 2002. AMAS injertado en guisantes (*Pisum sativum* L.) y dosis de nitrógeno de las bacterias y sus efectos sobre el rendimiento y la producción vegetal. *Rev. Cien. Agric. Fac. Agric*, 8: 300-305.
- Larcher, W. 1995. *Ecofisiología Vegetal*. Editorial Omega. Barcelona, España.
- Levitt, J. 1980. *Responses of plants to environmental stresses*. New York: Academic Press.
- Lichtenthaler, H. 1998. The stress concept in plants: an introduction. En: *Stress of life from molecules to man*. Csermely, O. (ed). *Academy of Sciences*, USA.
- Lowry, O.; Rosebrough, N.; Farr, A. y Randall, R. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem*, 193: 265-275.
- Lüttge, U. 2001. *Crassulacean Acid Metabolism*. Editorial Natural Publishing Group. Darmstadt, Alemania.
- Lüttge U. 2010. Ability of crassulacean acid metabolism plants to overcome interacting stresses in tropical environments. *AoB. Plant.*, 2010.
- Lüttge, U.; Kluge, M. y Bauer, G. 1993. *Botánica*. Editorial McGraw-Hill Interamericana. España.
- Maharix, T. 1991. Studies on the physiological response of pepper plant under sea conditions. Ph. D. Thesis, Fac. Of Agric. Cairo Univ. Egypt.
- Marschner, H. 1995. *Mineral Nutrition of Higher Plants*. Editorial Academic press, London, England.
- Martinez-Ballesta, M.; Silva, C.; Lopez-Berenguer, C.; Cabañero, F. y Carvajal, M. 2006. Plant Aquaporins: New Perspectives on Water and Nutrient Uptake in Saline Environment. *Plant. Biol.*, 8: 535-546.
- Moscoso, J. 1995. Aspectos técnicos de la agricultura con aguas residuales. Cepis, Lima, Perú. Disponible en: <http://www.cepis.ops-oms.org/bvsacd/can/019502.pdf>. En línea. (Consultado en agosto, 2015).

- Mualla, N. 2001. Using plant tissue culture technique for rapid propagation. *M.Sc. Thesis, Fac. Of Agric. Cairo Univ., Egypt.*
- Mualla, N. 2005. Using biotechnology Techniques in plant improvement and rapid propagation. *Ph. D. Thesis, Fac. Of Agric. Cairo Univ. Egypt.*
- Nerd, A. y Nobel, P. 2008. Effects of drought on water relations and nonstructural carbohy-drates in cladodes of *Opuntia ficus-indica*. *Physiol. Plant.*, 81: 495-500.
- Parida, A. y Das, A. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 60: 324 – 349.
- Pérez, A.; Nápoles, L.; Carvajal, C.; Hernández, M. y Lorenzo, J. C. 2003. Effect of sucrose, inorganic salts, inositol, and thiamine on protease excretion during pineapple culture in temporary immersion bioreactors. *In. Vitro. Cell. Dev. Biol. Plant.*, 40: 311–316
- Poblete, V.; Campo, V.; Gonzalez, I. y Montenegro, G. 1991. Anatomic leaf adaptations in vascular plants of a salt marsh in the atacama desert (Chile). *Revis. Soc. Chilena. Hist. Nat.*, 64: 65-75.
- Qadir, M.; Ghafoor, A.; Murtaza, G. 2001. Use of saline-sodic waters through phytoremediation of calcareous saline-sodic soils. *Agric. Water. Mgmt.*, 50: 197-210.
- Quintana, C.; Sanabria, M.; Ojeda, M. y Valera, R. 2012. Efecto de la salinidad sobre la anatomía foliar y radical de la piña (*Ananas comosus* (L.) Merr.) “Española Roja”. *Pittiera.*, 36: 87-108.
- Ramos, J.; Perrata, M.; Tivano, J. y Vegetti, A. 2004. Variaciones anatómicas en la raíz de *Pappophorum philippianum* inducidas por salinidad. *Phyton*, 73: 103-109.
- Reigosa, M. 1992. La planta en condiciones adversas. En: *Guía de la naturaleza de Galicia*. Editorial faro de Vigo, España.
- Reigosa, M.; Petro, N. y Sanchez, A. 2004. *La ecofisiología vegetal. Una ciencia de síntesis*. Editorial Madrid Thomsom Cop. España.
- Romero-Aranda, R.; Moya, J.; Tadeo, F.; Legaz, F.; Primo-Millo, E. y Talón, M. 1998. Physiological and anatomical disturbance induced by chloride salts in sensitive and tolerant citrus: beneficial and detrimental effects of cations. *Plant. Cell. Environ.*, 21: 1243-1253.
- Ross, W. 1974. *Plant Physiology Laboratory Manual*. Editorial Wadsworth Publishing Co, Belmont, California, Estados Unidos.

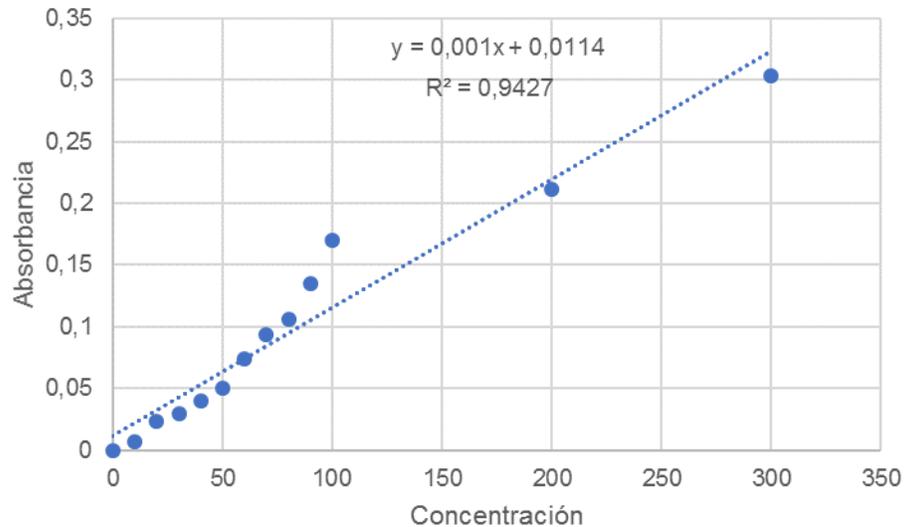
- Rozema, J.; Bijwaard, P.; Prast, G. y Broekman, R. 1985. Ecophysiological adaptations of coastal halophytes from foredunes and salt marshes. *Vegetation*, 62: 499-520.
- Sairam, R. y Tyagi, A. 2004. Physiological and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. *Curr. Sci.*, 86: 407- 421.
- Salas, J.; Sanabria, M. y Pire, R. 2001. Variación en el índice y la densidad estomática de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) sometidas a tratamientos salinos. *Bioagro.*, 13: 99-104.
- Serrano, B. 1996. Efecto de la salinidad sobre el crecimiento y desarrollo de algunos cultivares y portainjertos de vid. Tesis de maestría. Decanato de agronomía, Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado. Venezuela.
- Shabala, L.; Cuin, T.; Newman, I. y Shabala, S. 2005. Salinity-induced ion flux pattern from the excised roots of *Arabidopsis* sos mutants. *Plant.*, 222: 1041-1050.
- Shannon, M. 1979. In quest of rapid screening technique for plant salt tolerance. *J. American. Society. Horticult. Sci.*, 14: 587-589.
- Silveira, J.; Araújo, S.; Lima, J. y Viégas, R. 2009. Roots and leaves display contrasting osmotic adjustment mechanisms in response to NaCl-salinity in *Atriplex nummularia*. *Environ. Exp. Bot.*, 66: 1-8.
- Silvera, K.; Santiago, L. y Winter, K. 2005. Distribution of crassulacaen acid metabolism in orchids of Panama: Evidence of selection for weak and strong modes. *Funct. Plant. Biol.*, 32: 397-407.
- Singer, S.; El-Abd, S.; Saied, H.; El-Beltagy, M. y Abou, A. 1993. A possible role of calcium and cobalt in salt tolerance of cantaloupe seedlings. *Egypt. J. Hort.*, 20: 267-281.
- Singh, A. y Dubey, R. 1995. Changes in chlorophyll 'a' and 'b' contents and activities of photosystem I and II in rice seedlings induced by NaCl. *Photosynthetica.*, 31: 489-99.
- Sokal, R. y Rohlf, F. 1979. *Biometria; principios y métodos estadísticos en la investigación biológica*. Editorial H-Blume. Barcelona, España.
- Song, J.; Ding, X.; Feng, G. y Zhang, F. 2006. Nutritional and osmotic roles of nitrate in a euhalophyte and a xerophyte in saline conditions. *New. Phyt.*, 171: 357-366.
- Soussi, M.; Lluch, C. y Ocana, A. 1999. Comparative study of nitrogen fixation and carbon metabolism in two chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars under salt stress. *J. Exp. Bot.*, 50: 1701-1708.

- Spyropoulos, C. y Maurommatis, M. 1998. Effect of water stress on pigment formulation in quercus species. *J. Exp. Bot.*, 29: 273-477.
- Sykes, M. y Wilson, J. 1988. An experimental into the response of some New Zealand sand zone species to salt spary. *Ann. Bot.*, 62: 159-166.
- Taiz, L. y Zeiger, E. 2006. *Plant physiology*. Ediciones Sinauer associates, inc. Publischers. Sunderland, Massachusetts, USA.
- Tal, M. 1971. Salt tolerance in the wild relatives of cultivated tomato: responses of *Lycopersicon esculentum*; *L. peruvianum*; *L. esculentum minor* to sodium chloride solution. *Australian. J. Agric. Res.*, 22: 631-638.
- Vieira-Santos, C.; Campos, A.; Azevedo, H. y Caldeira, G. 2001. *In situ* and *in vitro* senescencia induced by KCl stress: nutricional imbalance, lipid peroxidation and antioxidant metabolism. *J. Exp. Bot.*, 52: 351-36.
- Vilanova-Neta, J.; Menezes, D.; Barreto, M.; Souza, J.; Carvalho-Neto, A.; Lêdo, A.; Ruzene, D. y Silva, D. 2014. Effect of salt stress on the activity of bromelain in pineapple plants grown *in vitro*. *BMC. Pro.*, 8: 199.
- Villalobos, A.; González, J.; Santos, R. y Rodríguez, R. 2012. Morpho-physiological changes in pineapple plantlets (*Ananas comosus* (L.) Merr.) during acclimatization. *Ciêc. Agrotec. Lavras.*, 36: 624-630.
- White, P. y Broadley, M. 2003. Calcium in Plants. *Annal. Bot.*, 92: 487-511.
- Wintermans, J. y De Motts, A. 1965. Spectrophotometric characteristics of chlorophylls a and b and their pheophytins in ethanol. *Biochem. Bioph. Act*, 109: 448-453.
- Winter, K. y Smith, J. 1996. Taxonomic distribution of Crassulacean acid metabolism. En: *Crassulacean acid metabolism*. Winter, K. y Smith, J. (eds). USA.
- Yeo, A. 1998. Molecular biology of salt tolerance in the context of whole-plant physiology. *J. Exp. Bot.*, 49: 913-929.
- Zain, S. y Abdullah, N. 2007. Effect of salinity on growth, proline accumulation and malate content of pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merrill.) under tissue culture condition. *Malays. Appl. Biol.*, 6: 57-63.
- Zheng, Y.; Xu, X.; Wang, M.; Zheng, X.; Li, Z. y Jiang, G. 2009. Responses of salt-tolerant and intolerant wheat genotypes to sodium chloride: photosynthesis, antioxidants activities, and yield. *Photosynthetica*. 47: 87-94.

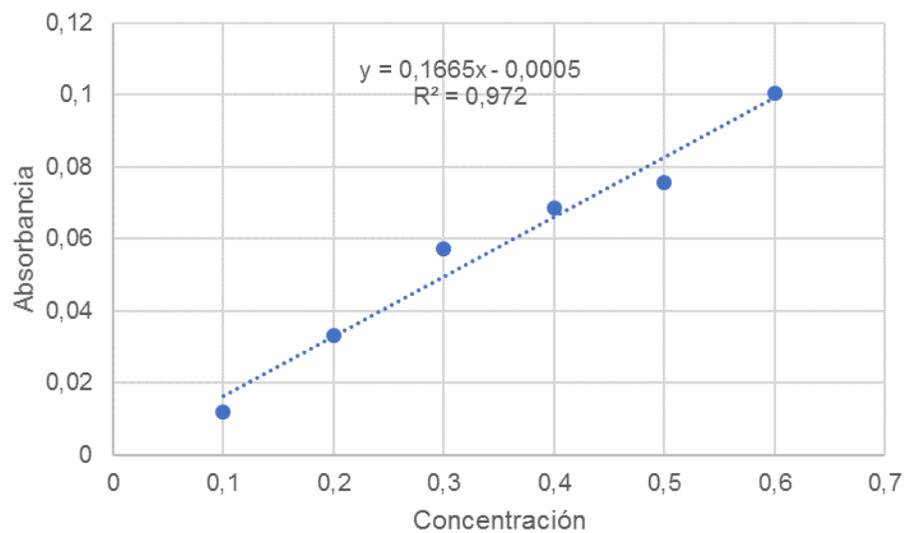
APÉNDICES



Apéndice 1.- Curva de calibración de proteínas (estándar de albúmina de suero bovino) en hojas de Ananas comosus sometida a tres tratamientos salinos por 4 meses: T0 (control: 0 mmol.m-3 de NaCl), T1 (Salino: NaCl a 150 mmol.m-3) y T2 (Salino + Ca: NaCl a 150 mmol.m-3 + CaSO4 a 10 mmol.m-3).



Apéndice 2.- Curva de calibración de los carbohidratos totales (estándar de glucosa) en hojas de Ananas comosus sometida a tres tratamientos salinos por 4 meses: T0 (control: 0 mmol.m-3 de NaCl), T1 (Salino: NaCl a 150 mmol.m-3) y T2 (Salino + Ca: NaCl a 150 mmol.m-3 + CaSO4 a 10 mmol.m-3).



Apéndice 3.- Curva de calibración de la prolina (estándar de prolina) en hojas de Ananas comosus sometida a tres tratamientos salinos por 4 meses: T0 (control: 0 mmol.m-3 de NaCl), T1 (Salino: NaCl a 150 mmol.m-3) y T2 (Salino + Ca: NaCl a 150 mmol.m-3 + CaSO4 a 10 mmol.m-3).

HOJAS DE METADATOS

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

Título	Efecto del sulfato de calcio (caso₄) en parámetros morfológicos y fisiológicos de la piña cv. Cumanesa (<i>ananas comosus</i> (L.) Merr.) Sometida a estrés salino por cloruro de sodio
---------------	---

Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
Rivas Velásquez Manuel de Jesús	CVLAC	24740614
	e-mail	manueldejesus8@hotmail.com
	e-mail	

Palabras o frases claves:

piña, cam, acidez titulable, clorofila, proteínas, carbohidratos, prolina.

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

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencias	Biología

Resumen (abstract):

Con la finalidad de evaluar el efecto del sulfato de calcio (CaSO_4) sobre la fisiología y morfología de *Ananas comosus* sometida a estrés salino, quince plantas se cultivaron en macetas, con medios estériles, a concentraciones de 0, 150 mmol.m^{-3} de NaCl y 150 mmol.m^{-3} de NaCl con 10 mmol.m^{-3} de CaSO_4 . El efecto de estos tratamientos sobre la productividad se determinó con base al número y largo de hojas, número de raíces, biomasa fresca y seca de todas las plantas. La fisiología se evaluó cuantificando la acidez titulable, clorofila, proteínas, carbohidratos y prolina en hojas siguiendo la metodología estándar. Todas las plantas sobrevivieron a los tratamientos. Los parámetros morfológicos evaluados no variaron con los tratamientos aplicados. En cuanto a los parámetros fisiológicos, la acidez titulable, correspondiente al malato, no varió entre tratamientos, sin embargo, la correspondiente al citrato fue mayor en el tratamiento 150 mmol.m^{-3} de NaCl. Los contenidos de clorofila *a* y *b*, en el tratamiento salino, variaron respecto al control, mientras en el tratamiento con calcio se mantuvieron; la clorofila total disminuyó en el tratamiento salino, mientras que se incrementó en el tratamiento salino con calcio. El contenido de proteínas no presentó diferencias entre tratamientos. El contenido de carbohidratos disminuyó en el tratamiento salino. La prolina disminuyó respecto al tratamiento control. En conclusión, la productividad de las plantas de piña no se vio afectada al ser cultivada en presencia de NaCl ni en NaCl más calcio; no obstante, la presencia de calcio mejoró las concentraciones de la clorofila y carbohidratos. Estos resultados permiten recomendar el cultivo de piña en cualquier zona del estado Sucre y de la región oriental del país.

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

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
Véliz José	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input checked="" type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	7711312
	e-mail	velizja@gmail.com
	e-mail	
Valerio Rosanna	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	11655957
	e-mail	rosanna_valerio@hotmail.com
	e-mail	
Zapata Édgar	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	12269219
	e-mail	ezapata@udo.edu.ve
	e-mail	

Fecha de discusión y aprobación:

Año Mes Día

2017	06	06
------	----	----

Lenguaje: SPA

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

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
tesis-rivasm.doc	Application/word

Alcance:

Espacial:

Temporal:

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

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



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
CONSEJO UNIVERSITARIO
RECTORADO

CUN°0975

Cumaná, 04 AGO 2009

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

Estimado Profesor Martínez:

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

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

Comunicación que hago a usted a los fines consiguientes.

RECIBIDO POR *[Firma]*
FECHA 5/8/09 HORA 5:20

Cordialmente,
JUAN A. BOLANOS CUNVELO
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 Telemática, Coordinación General de Postgrado.

JABC/YGC/maruja

Apartado Correos 094 / Telfs: 4008042 - 4008044 / 8008045 Telefax: 4008043 / Cumaná - Venezuela

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”.



Rivas Manuel

Autor



Prof: Véliz José

Asesor