



# **COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

**INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS**

**CAMPUS MONTECILLO**

**POSTGRADO DE EDAFOLOGÍA**

## **BIOTECNOLOGÍA MICROBIANA EN EL MANEJO DEL CHILE PIMIENTO (*Capsicum annum L.*)**

**AZAREEL ANGULO CASTRO**

**T E S I S**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL**

**PARA OBTENER EL GRADO DE:**

**DOCTOR EN CIENCIAS**

**MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO**

**2017**

La presente tesis titulada: BIOTECNOLOGÍA MICROBIANA EN EL MANEJO DEL CHILE PIMIENTO (*Capsicum annuum* L.)

realizada por el alumno: AZAREEL ANGULO CASTRO

bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS  
EDAFOLOGÍA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO

FIRMA

Dr. Ronald Ferrera Cerrato

ASESOR

Dr. Juan José Almaraz Suárez

ASESOR

Dr. Julián Delgadillo Martínez

ASESORA

Dra. Maribel Jiménez Fernández

ASESOR

Dr. Oscar García Barradas

Montecillo, Texcoco, Estado de México, marzo de 2017

# BIOTECNOLOGÍA MICROBIANA EN EL MANEJO DEL CHILE PIMIENTO (*Capsicum annuum* L.)

**Azareel Angulo Castro (Dr.)**

**Posgrado de Edafología**

## **RESUMEN**

Este estudio evaluó el crecimiento, desarrollo y calidad de fruto en plantas de Chile Pimiento Bell pepper (*Capsicum annuum*) en respuesta a la inoculación con cinco bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV) P61 (*Pseudomonas tolaasii*), A46 (*Pseudomonas tolaasii*), R44 (*Bacillus pumilus*), BSP1.1 (*Paenibacillus* sp.) y OLS-Sf5 (*Pseudomonas* sp.), y tres tratamientos con hongos micorrízicos arbusculares (HMA) [H1 (consorcio aislado de la rizosfera de Chile, estado de Puebla), H2 (*Rhizophagus intraradices*), y H3 (consorcio aislado de la rizosfera de limón, estado de Tabasco)]. Este trabajo fue dividido en tres capítulos que describen tres diferentes fases experimentales. El primer capítulo describe la selección de BPCV y HMA con base en su efecto en plántulas de Chile Bell pepper y jalapeño. El segundo capítulo presenta el sinergismo entre BPCV (*Pseudomonas tolaasii* y *Bacillus pumilus*) y HMA (consorcio micorrízico, integrado por *Funneliformis aff. geosporum* y *Claroideoglomus* sp.) con base en su efecto en plántulas de Chile Bell pepper. El tercer capítulo describe el sinergismo de BPCV y HMA con base en su efecto en el crecimiento y producción de Chile Bell pepper bajo un sistema hidropónico en invernadero con dos diferentes dosis de fertilización. Los mejores microorganismos que incrementaron el crecimiento en plántulas de Bell Pepper fueron P61 y R44, y el consorcio H1 de HMA, en comparación con el testigo sin fertilizar. La cepa P61 sin HMA y la interacción R44+HMA incrementaron el crecimiento de las plantas. El consorcio micorrízico mejoró la capacidad fotosintética del PSII con respecto a plantas testigo o con aquellas inoculadas con R44, o con la mezcla de ambas bacterias. El tratamiento P61+HMA con solución Steiner al 100% incrementó el crecimiento y desarrollo de Bell pepper. La calidad de fruto con base en azúcares totales, °Brix y peso fresco del fruto incrementó al inocular HMA y BPCV, independientemente del porcentaje de solución Steiner.

**Palabras clave:** hongos micorrízicos, rizobacterias, promoción de crecimiento, calidad del fruto

# MICROBIAL BIOTECHNOLOGY IN THE MANAGEMENT OF CHILI PEPPERS

(*Capsicum annuum* L.).

**Azareel Angulo Castro (Dr.)**

**Posgrado de Edafología**

## ABSTRACT

This study evaluated the plant growth, and the fruit quality of Bell pepper plants (*Capsicum annuum*) due to the inoculation of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and three arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). Inoculated bacteria were P61 (*Pseudomonas tolaasii*), A46 (*Pseudomonas tolaasii*), R44 (*Bacillus pumilus*), BSP1.1 (*Paenibacillus* sp.), and OLS-Sf5 (*Pseudomonas* sp.), and the inoculated AMF were H1 (consortium isolated from the rhizosphere of pepper plants, Puebla State), H2 (*Rhizophagus intraradices*), and H3 (consortium isolated from the lemon three rhizosphere, Tabasco State). This work was divided in three chapters. First chapter describes the screening of bacteria (*Pseudomonas tolaasii* and *Bacillus pumilus*) and AMF (consortium with *Funneliformis* aff. *Geosporum* and *Claroideoglosum* sp.), on the basis of growth stimulation of Bell pepper and jalapeño cultivars. Second chapter shows the synergism between PGPR (*Pseudomonas tolaasii* and *Bacillus pumilus*) and AMF (consortium integrated by *Funneliformis* aff. *geosporum* and *Claroideoglosum* sp.) on the growth of bell pepper seedlings. Third chapter describes synergism between PGPR and AMF based on the growth, production and quality of Bell pepper plants grown under a hydroponic system with two doses nutrient solution at greenhouse conditions. The best bacterial strains were P61 and R44, and the AMF consortium was H1. These microorganisms increased the plant growth when compared to unfertilized controls. The strain P61 without AMF and the interaction of R44+AMF resulted in increased plant growth. The mycorrhizal consortium improved the photosynthetic capacity of PSII when compared to control plants or those plants inoculated with R44, or with the mixture of both bacteria. The treatment P61+AMF with 100% Steiner solution improved the growth and development of Bell pepper plants. The content of total sugars, °Brix levels, and fresh weight of fruits were enhanced by inoculating either AMF or PGPR regardless to the fertilization with the nutrient solution.

**Keywords:** mycorrhizal fungi, rhizobacteria, growth promotion, fruit quality

## AGRADECIMIENTOS

**A Dios** por la vida, la salud y la fortaleza que me brinda día a día para seguir mis metas; por las bendiciones recibidas y por permitirme disfrutar lo maravilloso de la vida y escalar un peldaño más en mi vida profesional.

**Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)** por el apoyo económico otorgado durante el periodo de mi formación académica.

**Al Colegio de Postgraduados (COLPOS)** por abrirme las puertas y acogerme entre sus muros de sabiduría.

**AL Dr. Ronald Ferrera Cerrato** consejero y amigo, por su apoyo incondicional y sugerencias durante mi formación académica y desarrollo del trabajo de investigación. Además por sus valiosos conocimientos, tiempo y entusiasmo compartido.

**Al Dr. Alejandro Alarcón** profesor y amigo, por sus acertadas sugerencias y entusiasmo en el trabajo de investigación; por sus valiosos consejos, tiempo y conocimientos compartidos y; por permitirme formar parte de su grupo de investigación y persuadirme a realizar los estudios de doctorado.

**Dr. Juan José Almaraz Almaraz** por su amistad incondicional, sus conocimientos compartidos, su apoyo en los experimentos realizados del presente trabajo y sugerencias en los escritos.

**Dr. Julián Delgadillo Martínez** por su amistad incondicional, sus conocimientos compartidos, su apoyo en los experimentos realizados del presente trabajo y sugerencias en los escritos.

**Dra. Maribel Jiménez Fernández** por su amistad incondicional, sus conocimientos compartidos, su valioso apoyo brindado en la realización de cápsulas de alginato con microorganismos benéficos en la promoción del crecimiento vegetal.

**Dr. Oscar García Barradas** por su amistad incondicional, sus conocimientos compartidos, su apoyo brindado y sugerencias en los escritos.

**Dr. Crescenciano Saucedo Veloz** por facilitarme las instalaciones del laboratorio de poscosecha.

**A todos los doctores del Colegio de Postgraduados** que de alguna u otra forma contribuyeron con sus conocimientos en mi formación, en especial a los del área de Microbiología de suelos: **Dr. Ronald Ferrera Cerrato, Dr. Alejandro Alarcón, Dr. Juan José Almaraz Suárez, Dr. Julián Delgadillo Martínez, Dra. Maribel Jiménez Fernández, Dr. Oscar García Barradas, Dr. Jesús Pérez Moreno, MC. María Encarnación Lara, Dr. Manuel Sandoval Villa.**

**A todo el personal del posgrado en edafología:** administrativos, laboratoristas, encargados de invernadero, etc., por las facilidades brindadas, en especial a la secretaria **Rosario Galicia**, por su amistad, confianza, por estar siempre pendiente de la documentación del expediente y eficiencia en los trámites administrativos.

**A todos mis compañeros de cursos y del colegio**, por los momentos difíciles y gratos que compartimos y en especial a mis amigos (as); **Cesar Tucuch, Salvador Ríos Pérez, Faustino Hernández, Lucio Leos, Deisy Pineda Mendoza, Alfonso Villegas, Ma. Concepción Renteria, Brigsania Galindez Almazan, Daniel Torres Nava, Patricia Gamboa, Miriam Deloya, Eucario (Macario), Ana Carolina, Itzel, Vivian Quiroz, Gilberto Morales, Mariana Ferrera, Santos Carballar, Apolinar González, David Moreno, Uzziel Ríos, Anaitzi Carrera, Virginia Ortiz** por su amistad y por formar parte de mi familia en esta travesía de la vida.

**A todo el personal que labora en el colegio y a todas las personas que me faltaron, que en algún momento interactuaron conmigo.**

## DEDICATORIA

A MIS PADRES:

**José María Angulo Rodríguez y Mireyda Castro Castro**

Porque con el fruto de su amor me brindaron la oportunidad de estar en este mundo. Por sus apoyos incondicionales y consejos valiosos que me permitieron superar momentos difíciles y de desesperación; por inculcarme el respeto, la humildad, la gratitud y el perdón; y por ser la guía hacia el camino del bien y la fortaleza para superar obstáculos y alcanzar mis metas.

A MI ESPOSA

**Heidi Maribel Castro Rubio y mi hijo Azareel Angulo Castro**, que son el regalo más hermoso que Dios me ha dado.

A MIS HERMANOS:

**Emmanuel Angulo Castro**

**José María Angulo Castro**

**Alberto Angulo Castro**

Por la confianza, ánimos y apoyo que me brindaron en esta etapa importante de mi vida. Y por los buenos momentos que compartimos juntos y los malos que hemos superado.

A MI ABUELA

**Modesta Rodríguez García (q.e.p.d)**

Por ser la principal impulsora en mi superación y por haberme inculcado el camino del bien.

**A todas las personas que influyeron en mí para escalar un peldaño más en mi vida profesional.**

## CONTENIDO

CAPÍTULO I.....	1
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
CAPÍTULO II.....	3
II. OBJETIVOS E HIPÓTESIS.....	4
2.1. Objetivo General.....	4
2.1.1. Objetivos Particulares.....	4
2.2. Hipótesis General.....	5
2.2.1. Hipótesis Particulares.....	5
CAPÍTULO III.....	6
REVISIÓN DE LITERATURA.....	6
3.1. El cultivo del chile ( <i>Capsicum annuum</i> ).....	6
3.2. Descripción botánica del chile.....	7
3.3. Distribución del chile en México.....	8
3.4. Ciudades o pueblos con el nombre derivado por origen y uso del chile.....	10
3.5. Importancia económica del chile Pimiento Bell Pepper en México.....	12
3.6. Beneficios de la inoculación con hongos micorrízicos arbusculares (HMA).....	12
3.6.1. Los HMA en la nutrición de las plantas.....	13
3.7. Beneficios de la inoculación con bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV).....	14

3.7.1 Solubilización de fosfato por BPCV .....	15
3.7.2. Producción de auxinas por BPCV.....	16
3.8. Beneficios de la interacción HMA y BPCV en las plantas.....	17
3.9. El uso de BPCV cultivos hidropónicos.....	18
3.10. HMA en cultivos hidropónicos.....	22
CAPÍTULO IV. ....	24
CRECIMIENTO, Y EFICIENCIA FOTOQUÍMICA DEL FOTOSISTEMA II EN PLÁNTULAS DE DOS VARIEDADES DE <i>Capsicum annuum</i> L. INOCULADAS CON RIZOBACTERIAS Y HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES .....	24
4.1. INTRODUCCIÓN.....	26
4.2 MATERIALES Y MÉTODOS.....	28
4.2.1 Material vegetal y condiciones del experimento.....	28
4.2.2. Material microbiológico.....	28
4.2.3. Preparación del inóculo bacteriano .....	29
4.2.4. Siembra de la semilla e inoculación.....	29
4.2.5. Variables evaluadas.....	30
4.2.6. Tratamientos y diseño experimental .....	31
4.3. RESULTADOS .....	31
4.4. DISCUSIÓN .....	40
4.5. CONCLUSIONES .....	45

CAPÍTULO V. ....	46
CRECIMIENTO DE PLÁNTULAS DE PIMIENTO BELL PEPPER ( <i>Capsicum annuum</i> ) INOCULADAS CON HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES Y RIZOBACTERIAS PROMOTORAS DE CRECIMIENTO VEGETAL .....	46
CHAPTER V. ....	46
GROWTH OF PEPPER SEEDLINGS ( <i>Capsicum annuum</i> ) INOCULATED WITH ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI AND PLANT GROWTH PROMOTING RHIZOBACTERIA .....	47
5.1. INTRODUCCIÓN .....	47
5.2. MATERIALES Y MÉTODOS .....	50
5.2.1. Material vegetal y condiciones experimentales .....	50
5.2.2. Material microbiológico .....	51
5.2.3. Preparación del inóculo bacteriano .....	51
5.2.4. Siembra de la semilla e inoculación de los microorganismos.....	51
5.2.5. Variables evaluadas.....	52
5.2.6. Tratamientos y diseño experimental .....	53
5.3. RESULTADOS .....	53
5.4. DISCUSIÓN .....	60
5.5. CONCLUSIONES .....	66
CAPÍTULO VI. ....	66

CRECIMIENTO VEGETATIVO Y CALIDAD DE FRUTOS DE PIMIENTO BELL PEPPER INOCULADO CON HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES Y RIZOBACTERIAS PROMOTORAS DE CRECIMIENTO VEGETAL EN SISTEMA HIDROPÓNICO.....	67
CHAPTER VI.....	67
VEGETATIVE GROWTH AND FRUIT QUALITY OF BELL PEPPERS INOCULATED WITH ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI AND PLANT GROWTH PROMOTING RHIZOBACTERIA IN HYDROPONIC SYSTEM .....	68
6.1. INTRODUCCIÓN.....	69
6.2. MATERIALES Y MÉTODOS .....	72
6.2.1. Material vegetal y condiciones experimentales .....	72
6.2.2. Material microbiológico.....	72
6.2.4. Siembra de la semilla e inoculación de los microorganismos.....	73
6.2.5. Aplicación de solución nutritiva y manejo agronómico.....	73
6.2.6. Variables evaluadas.....	74
6.2.7. Tratamientos y diseño experimental .....	77
6.3. RESULTADOS .....	78
6.4. DISCUSION .....	96
6.5. CONCLUSIONES .....	102
CAPÍTULO VII.....	104
DISCUSIÓN GENERAL DE RESULTADOS Y CONCLUSIONES GENERALES .....	104

CAPÍTULO VIII. ....	108
LITERATURA CITADA.....	108
ANEXO I.....	136

## LISTA DE CUADROS

<b>Cuadro 3.1.</b> Toponimia de lugares que en su nombre llevan como componente al Chile (Cyphers <i>et al.</i> , 2009). .....	11
<b>Cuadro 4.1.</b> Colonización de los HMA en plantas de Chile pimiento Bell Pepper y Jalapeño ( <i>Capsicum annuum</i> ). .....	40
<b>Cuadro 5.1.</b> Colonización micorrízica (total, arbuscúlos y vesículas) en raíces de plantas de pimiento Bell Pepper ( <i>Capsicum annuum</i> ), inoculadas con bacterias promotoras del crecimiento vegetal y consorcios de hongo micorrízicos, después de 80 días. ....	60
<b>Cuadro 6.1.</b> Altura de planta, diámetro de tallo, peso seco de raíz, parte aérea y total, y número de frutos por planta, en plantas de pimiento Bell Pepper ( <i>Capsicum annuum</i> ) inoculadas con HMA y BPCV, irrigadas con dos concentraciones de solución de Steiner, a los 140 días después del trasplante. ....	81
<b>Cuadro 6.2.</b> Fv/Fo y unidades SPAD, en plantas de pimiento Bell Pepper ( <i>Capsicum annuum</i> ) inoculadas con HMA y BPCV, irrigadas con dos concentraciones de solución de Steiner, a los 140 días después del trasplante. ....	92
<b>Cuadro 6.3.</b> °Brix, Fv/Fo, acidez, firmeza y pH en frutos en plantas de pimiento Bell Pepper ( <i>Capsicum annuum</i> ) inoculadas con HMA y BPCV, irrigadas con dos concentraciones de solución de Steiner, a los 140 días después del trasplante. ....	94
<b>Cuadro 6.4.</b> Ancho y longitud de frutos, en plantas de pimiento Bell Pepper ( <i>Capsicum annuum</i> ) inoculadas con HMA y BPCV, irrigadas con dos concentraciones de solución de Steiner, a los 140 días después del trasplante. ....	95

**Cuadro 6.5.** Colonización micorrízica (total, arbusculos y vesículas) en raíces de plantas de pimiento Bell Pepper (*Capsicum annuum*), inoculadas con hongos micorrizicos arbusculares y bacterias promotoras del crecimiento vegetal, a los 140 días después del trasplante..... 96

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 3.1.** Diversidad de chiles en México. (Modificado de Aguilar-Rincón *et al.*, 2010). 9

**Figura 4.1.** Altura (A), diámetro de tallo (B), volumen radical (C), y peso seco total (D) de plantas de chile (*Capsicum annuum*) pimiento Bell Pepper, por efecto de la inoculación de cepas bacterianas promotoras del crecimiento vegetal, y consorcios de hongos micorrízicos arbusculares, después de 70 días. n = 15. Medias ± Error estándar. Letras idénticas sobre las barras en su correspondiente gráfica, son estadísticamente iguales (LSD,  $\alpha = 0.05$ ). Abreviaturas: A46= *Pseudomonas tolaasii*, P61 = *Pseudomonas tolaasii*, OLS-Sf5 = *Pseudomonas* sp., R44= *Bacillus pumilus*, BSP1.1 = *Paenibacillus* sp., H1 = *Funneliformis aff. geosporum* y *Claroideoglobus* spp., H2 = *Rhizophagus intraradices.*, H3 = *Rhizophagus fasciculatus*, *Glomus* sp., y *Archaeospora* sp., T= Testigo absoluto, y TF= Testigo fertilizado..... 33

**Figura 4.2.** Altura (A), diámetro de tallo (B), volumen radical (C), y peso seco total (D) de plantas de chile (*Capsicum annuum*) jalapeño, por efecto de la inoculación de cepas bacterianas promotoras del crecimiento vegetal, y consorcios de hongos micorrízicos arbusculares, después de 70 días. n = 15. Medias ± Error estándar. Letras idénticas sobre las barras en su correspondiente gráfica, son estadísticamente iguales (LSD,  $\alpha = 0.05$ ). Abreviaturas: A46= *Pseudomonas tolaasii*, P61 = *Pseudomonas tolaasii*, OLS-Sf5 = *Pseudomonas* sp., R44= *Bacillus pumilus*, BSP1.1 = *Paenibacillus* sp., H1 =

*Funneliformis aff. geosporum* y *Claroideoglopus* spp., H2 = *Rhizophagus intraradices*., H3 = *Rhizophagus fasciculatus*, *Glomus* sp., y *Archaeospora* sp., T= Testigo absoluto, y TF= Testigo fertilizado.....34

**Figura 4.3.** Número de hojas (A), Área foliar (B), peso seco de hojas (C), área foliar específica (D) plantas de chile (*Capsicum annuum*) pimiento Bell Pepper, por efecto de la inoculación de cepas bacterianas promotoras del crecimiento vegetal, y consorcios de hongos micorrízicos arbusculares, después de 70 días. n = 15. Medias ± Error estándar. Letras idénticas sobre las barras en su correspondiente gráfica, son estadísticamente iguales (LSD,  $\alpha = 0.05$ ). Abreviaturas: A46= *Pseudomonas tolaasii*, P61 = *Pseudomomas tolaasii*, OLS-Sf5 = *Pseudomomas* sp., R44= *Bacillus pumilus*, BSP1.1 = *Paenibacillus* sp., H1 = *Funneliformis aff. geosporum* y *Claroideoglopus* spp., H2 = *Rhizophagus intraradices*., H3 = *Rhizophagus fasciculatus*, *Glomus* sp., y *Archaeospora* sp., T= Testigo absoluto, y TF= Testigo fertilizado.....35

**Figura 4.4.** Número de hojas (A), Área foliar (B), peso seco de hojas (C), área foliar específica (D) de plantas de chile (*Capsicum annuum*) jalapeño, por efecto de la inoculación de cepas bacterianas promotoras del crecimiento vegetal, y consorcios de hongos micorrízicos arbusculares, después de 70 días. n = 15. Medias ± Error estándar. Letras idénticas sobre las barras en su correspondiente gráfica, son estadísticamente iguales (LSD,  $\alpha = 0.05$ ). Abreviaturas: A46= *Pseudomonas tolaasii*, P61 = *Pseudomomas tolaasii*, OLS-Sf5 = *Pseudomomas* sp., R44= *Bacillus pumilus*, BSP1.1 = *Paenibacillus* sp., H1 = *Funneliformis aff. geosporum* y *Claroideoglopus* spp., H2 = *Rhizophagus intraradices*., H3 = *Rhizophagus fasciculatus*, *Glomus* sp., y *Archaeospora* sp., T= Testigo absoluto, y TF= Testigo fertilizado.....37

**Figura 4.5.** Valores de Fv/Fo en plantas de chile (*Capsicum annuum*) pimiento Bell Pepper (A) y Jalapeño (B), por efecto de la inoculación de cepas bacterianas promotoras del crecimiento vegetal, y consorcios de hongos micorrízicos arbusculares, después de 70 días. n = 8. Medias ± Error estándar. Letras idénticas sobre las barras en su correspondiente gráfica, son estadísticamente iguales (LSD,  $\alpha = 0.05$ ). Abreviaturas: A46= *Pseudomonas tolaasii*, P61 = *Pseudomonas tolaasii*, OLS-Sf5 = *Pseudomonas* sp., R44= *Bacillus pumilus*, BSP1.1 = *Paenibacillus* sp., H1 = *Funneliformis aff. geosporum* y *Claroideoglosum* spp., H2 = *Rhizophagus intraradices.*, H3 = *Rhizophagus fasciculatus*, *Glomus* sp., y *Archaeospora* sp., T= Testigo absoluto, y TF= Testigo fertilizado. .... 39

**Figura 5.1.** Altura (A), número de hojas (B), área foliar (C) de plantas de chile (*Capsicum annuum*) pimiento Bell Pepper, por efecto de la inoculación de cepas bacterianas promotoras del crecimiento vegetal, y consorcio de hongos micorrízicos arbusculares (HMA), después de 80 días. n = 12. Medias ± Error estándar. Presencia de asterisco indica diferencia estadística entre sus correspondientes barras (LSD,  $\alpha = 0.05$ ). Abreviaturas: P61= *Pseudomonas tolaasii*, R44= *Bacillus pumilus*, Mezcla= P61+R44. .... 55

**Figura 5.2.** Peso seco total (A), peso sedo aéreo (B), peso seco raíz (C) de plantas de chile (*Capsicum annuum*) pimiento Bell Pepper, por efecto de la inoculación de cepas bacterianas promotoras del crecimiento vegetal, y consorcio de hongos micorrízicos arbusculares (HMA), después de 80 días. n = 12. Medias ± Error estándar. Presencia de asterisco indica diferencia estadística entre sus correspondientes barras (LSD,  $\alpha = 0.05$ ). Abreviaturas: P61= *Pseudomonas tolaasii*, R44= *Bacillus pumilus*, Mezcla= P61+R44. .... 57

**Figura 5.4.** Fv/Fo (A), unidades SPAD (B) de plantas de chile (*Capsicum annuum*) pimiento Bell Pepper, por efecto de la inoculación de cepas bacterianas promotoras del crecimiento vegetal, y consorcio de hongos micorrízicos arbusculares, después de 80 días. n = 12. Medias ± Error estándar. Presencia de asterisco indica diferencia estadística entre sus correspondientes barras (LSD,  $\alpha = 0.05$ ). Abreviaturas: control = Testigo absoluto, P61= *Pseudomonas tolaasii*, R44= *Bacillus pumilus*, Mezcla= P61+R44. .... 59

**Figura 6.1.** Área foliar (A), número de hojas (B), de plantas de chile (*Capsicum annuum*) pimiento Bell Pepper, por efecto de la inoculación de una cepa bacteriana promotora del crecimiento vegetal, un consorcio de hongos micorrízicos arbusculares (HMA), y dos concentraciones de solución nutritiva Steiner (50 y 100%), después de 145 días del trasplante. n = 6. Medias ± Error estándar. Letras idénticas sobre las barras en su correspondiente gráfica, son estadísticamente iguales (LSD,  $\alpha = 0.05$ ). Abreviaturas: BPCV= *Pseudomonas tolaasii*, 50% = Solución Steiner al 50%, 100%= Solución Steiner al 100%. ..... 82

**Figura 6.2.** Contenido de nitrógeno (A), fósforo (B), potasio (C), calcio (D), magnesio (E) de plantas de chile (*Capsicum annuum*) pimiento Bell Pepper, por efecto de la inoculación de una cepa bacteriana promotora del crecimiento vegetal, un consorcio de hongos micorrízicos arbusculares (HMA), y dos concentraciones de solución nutritiva Steiner (50 y 100%), después de 145 días del trasplante. n = 6. Medias ± Error estándar. Letras idénticas sobre las barras en su correspondiente gráfica, son estadísticamente iguales (LSD,  $\alpha = 0.05$ ). Abreviaturas: BPCV= *Pseudomonas tolaasii*, 50% = Solución Steiner al 50%, 100%= Solución Steiner al 100%..... 84

**Figura 6.3.** Contenido de hierro (A), cobre (B), zinc (C), manganeso (D), ) de plantas de chile (*Capsicum annuum*) pimiento Bell Pepper, por efecto de la inoculación de una

cepa bacteriana promotora del crecimiento vegetal, un consorcio de hongos micorrízicos arbusculares (HMA), y dos concentraciones de solución nutritiva Steiner (50 y 100%), después de 145 días del trasplante. n = 6. Medias  $\pm$  Error estándar. Letras idénticas sobre las barras en su correspondiente gráfica, son estadísticamente iguales (LSD,  $\alpha = 0.05$ ).  
 Abreviaturas: BPCV= *Pseudomonas tolaasii*, 50% = Solución Steiner al 50%, 100%= Solución Steiner al 100%..... 87

**Figura 6.4.** Peso fresco del fruto (A), pérdida de peso del fruto (B), ) de plantas de chile (*Capsicum annuum*) pimiento Bell Pepper, por efecto de la inoculación de una cepa bacteriana promotora del crecimiento vegetal, un consorcio de hongos micorrízicos arbusculares (HMA), y dos concentraciones de solución nutritiva Steiner (50 y 100%), después de 145 días del trasplante. n = 6. Medias  $\pm$  Error estándar. Letras idénticas sobre las barras en su correspondiente gráfica, son estadísticamente iguales (LSD,  $\alpha = 0.05$ ).  
 Abreviaturas: BPCV= *Pseudomonas tolaasii*, 50% = Solución Steiner al 50%, 100%= Solución Steiner al 100%..... 89

**Figura 6.5.** Azúcares totales en frutos (A), vitamina C en frutos (B), ) de plantas de chile (*Capsicum annuum*) pimiento Bell Pepper, por efecto de la inoculación de una cepa bacteriana promotora del crecimiento vegetal, un consorcio de hongos micorrízicos arbusculares (HMA), y dos concentraciones de solución nutritiva Steiner (50 y 100%), después de 145 días del trasplante. n = 6. Medias  $\pm$  Error estándar. Letras idénticas sobre las barras en su correspondiente gráfica, son estadísticamente iguales (LSD,  $\alpha = 0.05$ ).  
 Abreviaturas: BPCV= *Pseudomonas tolaasii*, 50% = Solución Steiner al 50%, 100%= Solución Steiner al 100%..... 90

## CAPÍTULO I.

### INTRODUCCIÓN GENERAL

México es uno de los países con mayor diversidad genética de *Capsicum* y es uno de los principales productores, superado solo por China (FAOSTAT, 2016). La producción estimada en el 2014 fue de 2.7 millones de toneladas, producidas en 148 mil hectáreas y distribuidas principalmente en los estados de Chihuahua, Sinaloa, Zacatecas, San Luis Potosí, Michoacán, Jalisco, Sonora y Tamaulipas (SIAP, 2016). Las variedades más cultivadas en el país son chile jalapeño, mirasol, poblano, anehim, serrano, chilaca, bell pepper, pasilla, piquín, y chile habanero. El chile Bell pepper ocupa el séptimo lugar entre las variedades más cultivadas en México, en el 2014 ocupó 2 614 ha y generó 85 930 t; de esta producción, más del 87 % fue obtenida en el estado de Sinaloa (SIAP, 2016).

Existen diversos factores que limitan la producción de los cultivares de chile, los más mencionados son la falta de nutrimentos y agua, además de las plagas y enfermedades causadas por fitopatógenos del suelo como *Phytophthora capsici*, *Fusarium* sp., *Alternaria* sp., *Rhizoctonia solani* y *Pythium* (Mena-Violante *et al.*, 2006; Alejo-Iturvide *et al.*, 2008). Lo anterior ha permitido que exista dependencia del cultivo de chile en el uso intensivo de productos sintéticos, los cuales al no ser aprovechadas en su totalidad provocan la contaminación de los ecosistemas suelo-agua-atmósfera (Leogrande *et al.*, 2013).

El nitrógeno es uno de los nutrimentos más limitados en el suelo, por lo que se complementa con la aplicación de fertilizantes sintéticos; sin embargo, se aprovecha únicamente el 50 % del fertilizante y el resto es lixiviado (Cameron *et al.*, 2013), provocando la eutrofización y contaminación de aguas superficiales y subterráneas, además de contribuir al calentamiento global mediante la emisión de óxido nitroso (N<sub>2</sub>O) (Smil, 1999; Spiertz, 2010; Hoben *et al.*, 2011).

Para disminuir los problemas ambientales es necesario implementar nuevos modelos agrícolas, que sean sustentables y que permitan la producción de alimentos sanos para la sociedad. El uso de biofertilizantes a base de microorganismos benéficos es una de las alternativas para mitigar los problemas ambientales, al reducir el uso de productos químicos y proporcionar beneficios a la planta. Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV) y los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) pueden ser inoculados como biofertilizantes debido a los diversos beneficios que estas proporcionan a su hospedante.

Las BPCV mejoran el crecimiento y sanidad de las plantas mediante mecanismos como la producción de sustancias reguladoras del crecimiento vegetal (fitohormonas), la supresión de fitopatógenos a través de la antibiosis, la producción de sideróforos, fijación de nitrógeno atmosférico, la mineralización del fósforo orgánico, y el aumento de la absorción de minerales; estos mecanismos permiten un mejor rendimiento de los cultivos a los que se encuentran asociados (Glick, 2012; Ahemad y Kibret, 2014; Raines *et al.*, 2015; Wei *et al.*, 2016).

Los HMA son hongos del phylum *Glomeromycota* que habitan el suelo y se asocian simbióticamente con más del 90 % de las plantas terrestres (Schüßler *et al.*, 2001; Smith y Read, 2008). Las plantas proporcionan carbohidratos como fuente de alimento para los hongos, en cambio éstos proporcionan diversos beneficios para las plantas. Los HMA permiten mayor absorción de agua y nutrientes por las plantas, al formar una red de micelio que permite mayor exploración del suelo (Guo *et al.*, 2010; Smith *et al.*, 2015); también proporcionan resistencia contra factores bióticos (patógenos, herbívoros) y abióticos (sequía, salinidad, metales pesados) (Smith y Read, 2008; Lehmann y Rillig 2015; Zhao *et al.*, 2015).

En cultivares de *Capsicum* se han inoculado BPCV como *Azospirillum brasilense* y *Pantoea dispersa*, *Bacillus cereus*, *B. macroides*, y *B. pumilus* (Joo *et al.*, 2004; Flores *et al.*, 2010) y HMA como *Glomus mosseae*, *G. intraradices*, *G. etunicatum*, *G. clarum*, *Gigaspora margarita*, *Acaulospora* sp., *Scutellospora* sp. y *Entrophospora* sp. (Sensoy *et al.*, 2007; Ortas *et al.*, 2011; Cekic *et al.*, 2012; Douds *et al.*, 2012; Boonlue *et al.*, 2012). Estos microorganismos han sido inoculados en combinación como el caso de *Klebsiella pneumoniae* con *G. intraradices* (Rueda-Puente *et al.*, 2010), *Acinetobacter junii* con *Rhizophagus intraradices* y *R. fasciculatus* (Padmavathi *et al.*, 2015), *Pseudomonas fluorescens* con *G. mosseae* y *Acaulospora laevis* (Tanwar *et al.*, 2013); los cuales han permitido mayor crecimiento (altura, área foliar, longitud radical y biomasa seca), mejor contenido de nitrógeno y fósforo, mayor adaptación a condiciones de salinidad, mayor tasa fotosintética y mayor número y peso de frutos de chile.

Por lo anterior, en este trabajo se evaluó la inoculación de BPCV (*Pseudomonas tolaasii*, *Bacillus pumilus*, *Paenibacillus* sp. y *Pseudomonas* sp.) y HMA (consorcio micorrízico conformado por *Funneliformis geosporum* y *Claroideoglosum* spp.; *R. intraradices*; y un consorcio conformado por *Rhizophagus fasciculatus*, *Glomus* sp., y *Archaeospora* sp.) solos o en combinación en el cultivo de chile Bell pepper. El objetivo general consistió en generar una biotecnología basada en el uso de microorganismos benéficos dirigidos al manejo y producción de chile pimienta (*Capsicum annuum* L.).

## CAPÍTULO II.

## II. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

### 2.1. Objetivo General

- Generar una biotecnología basada en el uso de microorganismos benéficos dirigidos al manejo y producción de chile pimiento (*Capsicum annuum* L.).

#### 2.1.1. Objetivos Particulares

- Evaluar el efecto de cinco cepas de BPCV y HMA, en el crecimiento y eficiencia del fotosistema II de plántulas de chile Bell Pepper y Jalapeño, en condiciones controladas.
- Estudiar el sinergismo entre BPCV y HMA con base en su efecto en el crecimiento y en la eficiencia del fotosistema II de plántulas de chile Bell Pepper “California Wonder” en condiciones de invernadero.
- Estudiar el sinergismo en las BPCV y los HMA con base en su efecto en el crecimiento y producción de chile Bell Pepper "California Wonder" bajo un sistema hidropónico en invernadero y diferentes dosis de fertilización.

## **2.2. Hipótesis General**

- El uso de la biotecnología basada en microorganismos benéficos hace más eficiente la producción de chile pimiento (*Capsicum annuum* L.).

### **2.2.1. Hipótesis Particulares**

- Al menos una cepa de BPCV y una consorcio de HMA promueven el crecimiento vegetal y hacen más eficiente el fotosistema II de plántulas de chile Bell Pepper y Jalapeño, en condiciones controladas.
- El sinergismo entre BPCV y HMA promueve el crecimiento y la eficiencia del fotosistema II de plántulas de chile Bell Pepper “California Wonder” en condiciones de invernadero.
- El sinergismo entre BPCV y HMA promueven el crecimiento y producción de chile Bell Pepper "California Wonder" bajo un sistema hidropónico en invernadero y diferentes dosis de fertilización.

## CAPÍTULO III.

### REVISIÓN DE LITERATURA

#### 3.1. El cultivo del chile (*Capsicum annuum*)

El chile es considerado una de las primeras plantas cultivadas de Mesoamérica y la continuidad de su uso se confirma desde 7000 y 5000 años A.C (Long-Solis, 1986). El centro de origen de *Capsicum* spp. es América del Sur (Loaiza-Figueroa *et al.*, 1989; Hernández *et al.*, 1999) y el número de especies silvestres que comprende el género *Capsicum* es de 20 a 23 (Eshbaugh, 1983), pero Loaiza-Figueroa *et al.* (1983) y Hernández *et al.* (1999) reportan que son entre 27 ó 30 especies. Actualmente se reconocen 5 especies cultivadas: *C. Baccatum*, *C. Pubescens*, *C. Frutescens*, *C. Chinense* y *C. annuum* (IBPGR, 1983).

Los frutos de chile (*Capsicum* spp.) son relevantes en la alimentación humana y se consumen en fresco y como condimento. La planta sintetiza y acumula capsaicinoides, un grupo de alcaloides responsables del picor y ubicados principalmente en el tejido de la placenta adyacente a las semillas (De, 2003; Ben-Chaim *et al.*, 2006) y su contenido depende del genotipo, la madurez del fruto y las condiciones de cultivo (Zewdie y Bosland, 2000). Los principales capsaicinoides son nornorcapsaicina, norcapsaicina, capsaicina, homocapsaicina, nornordihidrocapsaicina, nordihidrocapsaicina, dihidrocapsaicina, y homodihidrocapsaicina. La capsaicina y la dihidrocapsaicina son los responsables de más de 90 % del picor (Betts, 1999; Manirakiza *et al.*, 2003).

### 3.2. Descripción botánica del chile

El chile pertenece al género *Capsicum* cuyo significado se deriva del griego *kapso* (picar) o *Kapsakes* (cápsula) (Nuez *et al.*, 2003). Según Izco (2004) se clasifica de la siguiente manera:

Reino	Vegetal
Subreino	Embriophyta
División	Angiospermae
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Ranunculidae
Orden	Solanales
Familia	Solanaceae
Género	<i>Capsicum</i>

De acuerdo con Montes (2010), se reconoce toda la diversidad domesticada de *Capsicum annuum*. Se distingue de las otras especies cultivadas por la presencia de un cáliz dentado y una flor blanca grande en cada nudo. Su descripción botánica es la siguiente:

Plantas herbáceas o arbustivas de 1.5 m de alto, perennes o anuales, principalmente glabras: flores solitarias, raramente en pares, ocasionalmente fasciculadas, sin constricción en la base del cáliz y pedicelo, aunque a veces un poco rugoso; cáliz dentado, ausente o rudimentario; corola de color blanco a azul, raramente violeta, sin manchas difusas en la base de los pétalos; pétalos usualmente rectos; anteras normalmente de color azul a violeta, filamentos cortos: frutos inmaduros de color verde y rojos, cuando maduros de color naranja y púrpura-amarillo, persistentes, pendientes, raramente erectos, variables en su tamaño y forma; semillas de color crema a amarillo (Vilmorin, 1977).

La planta de chile tiene comportamiento anual y perenne, tiene tallos erectos, herbáceos y ramificados de color verde oscuro, el sistema de raíces llega a profundidades de 0.70 a 1.20 m, y lateralmente hasta 1.20 m, la altura promedio de la planta es de 60 cm, las hojas son planas, simples y de forma ovoide alargada (Montes, 2010).

Las flores son perfectas (hermafroditas), formándose en las axilas de las ramas; son de color blanco y a veces púrpura, el fruto en algunas variedades se hace curvo cuando se acerca a la madurez; para el caso de los pimientos verdes usualmente se cosechan cuando están grandes y firmes en la fase verde inmadura, también se puede permitir que maduren al color rojo, amarillo, naranja, morado u otros colores (Mongkolporn y Taylor, 2011).

En el caso de la forma, tamaño y color de los frutos, éstos varían en forma alargada, cónica o redonda; de 1 a 30 cm de longitud; fruto de cuerpo grueso, macizo o aplanado. Presentan coloración verde y amarillo cuando están inmaduros; rojos, amarillos, anaranjados y café en estado maduro (Paran *et al.*, 2007).

### **3.3. Distribución del chile en México**

Aguilar-Rincón *et al.* (2010) muestra la distribución del chile en el territorio mexicano, derivado de 1300 colectas de chile cubriendo la mayor parte de los estados del país. La diversidad de chile mostrada por este autor es la más completa y actualizada a la fecha, sin embargo falta recabar más información de colectas en los estados que se localizan en la parte norte del país. Las especies de chile más importantes en el mundo y la mayor diversidad se encuentran en México por ser su centro de domesticación. Al menos 56 tipos diferentes de chiles se reportan en el país (Figura 3.1), de éstos los más importantes son Serrano, jalapeño, Guajillo y Anchos cultivados principalmente en el centro y norte del país. Otros de importancia intermedia son Pasilla, Habanero, de Árbol y Manzano; y de

menor importancia económica pero con mayor diversidad, se encuentran el Huacle, Costeño Rayado y de Agua (Aguilar-Rincón *et al.*, 2010).



**Figura 3.1.** Diversidad de chiles en México. (Modificado de Aguilar-Rincón *et al.*, 2010).

### 3.4. Ciudades o pueblos con el nombre derivado por origen y uso del chile

En la época prehispánica, el nombre de ciertos lugares en México ya se les asociaba al chile y una de las primeras referencias iconográficas se encuentra en un topónimo registrado en el Edificio J de Monte Albán, Oaxaca (hoy día sitio arqueológico del estado) representado por un cerro de las plantas de chile, mostrando una planta y tres frutos (Cyphers *et al.*, 2009).

Otro lugar relacionado con el chile es Chilixtlahuaca “en el llano del chile”, en la Región de la Montaña, Guerrero, que aparece representado en el *Lienzo de Citlaltépec* identificado por Flor Yenín Cerón (2006), este representa un llano que en medio muestra un chile, el poblado se localiza en los límites de Oaxaca y Guerrero. Otros lugares que llevan al chile como componente de su nombre, se muestra en el cuadro 3.1, destacando: Chilapan “Río de los chiles”, actualmente Chilapa de Álvarez, Guerrero; Chilacachapan “sobre el agua de *chilacáxitl*” (un tipo de chile), ahora Chilacachapa Guerrero; Chiltecpictlán “chilar de chiltepiquines” hoy Tepintla, Puebla; Chilchotla “Chile picante que hace llorar”, Puebla; y Chilcuautla “arboleda de chiles” Hidalgo (Cyphers *et al.*, 2009), Chilapa (Guerrero) agua color de chile o en el agua achilada. Chilapan (Veracruz) en el agua de los chilares. Chiltepec (Oaxaca) cerro de los chiles. San Juan Chilateca (Oaxaca) habitantes del chilar, San José del Chilar (Oaxaca) chilar. Chilcuautla (Hidalgo) arboleda de chiles, Chilchota (Michoacán) lugar de chiles o chile verde. Chilchotla (Puebla) donde abunda el pimiento o chile picante que hace llorar, Tepintla, (Puebla) chilar de chiltepiquines, Chilixtlahuaca (límites entre Oaxaca y Guerrero) (en el llano del chile), Chilhuacan (Atlixco Puebla) lugar de chileros. (Moreno-Rojas, 2013).

**Cuadro 3.1.** Toponimia de lugares que en su nombre llevan como componente al chile (Cyphers *et al.*, 2009).

Localidad	Estado	Significado del nombre
Chilapa	Guerrero	Agua color de chile o en el agua achilada.
Chilapán	Guerrero y Veracruz	En el agua de los chilares o sobre el agua de <i>chilacáxítl</i> (un tipo de chile-chilaca-).
San José Chiltepec	Oaxaca	<i>Chilli Chile</i> y <i>Tepetl</i> Cerro: Cerro de los chiles.
Chiltepec	Oaxaca	Cerro de los chiles
San Juan Chilateca	Oaxaca	<i>Chila</i> nombre del lugar, <i>Chilli Chile</i> : habitantes del Chilar.
San José del Chilar	Oaxaca	Chilar.
Chilixtlahuaca	Límites entre Oaxaca y Guerrero	En el llano del chile.
Chilcuautla	Hidalgo	<i>Chilli</i> “chile” y <i>cuautla</i> “arboleda”: Arboleda de chiles.
Chilchota	Michoacán	Del náhuatl <i>Chillitl</i> chile y <i>tlán</i> lugar: Lugar de chiles.
Chiltecpictlán (Tepintla)	Puebla	Chilar de chiltepiquines.
Chilhuacan	Puebla	Lugar de los chileros.
Chilacachapan (Chilacachapa)	Guerrero	Sobre el agua de <i>chilacáxítl</i> (un tipo de chile chilaca).
Chilchoc	Distrito Federal	En el chile verde
Chilocan	Distrito Federal	Lugar de chiles
Chilchotla	Puebla	<i>Chilchote</i> (chile picante que hace llorar), <i>tla</i> (abundancia): Donde abunda el pimientillo o chile picante que hace llorar.

### **3.5. Importancia económica del chile Pimiento Bell Pepper en México.**

El cultivo de pimiento morrón o Bell Pepper (*Capsicum annuum* L.) es una de las actividades más importantes en el sector hortícola de México (Moreno *et al.*, 2011). La superficie sembrada de chile Bell Pepper en México fue de 2614 has con una producción anual de 85,930.83 ton en el 2014, de las cuales 75,238.83 ton fueron producidas en el estado de Sinaloa, 9824 en el estado de Sonora, y el resto en Baja California y Baja California Sur (SIAP, 2016).

México es potencia en la producción y exportación de este tipo de chile. Las exportaciones de pimiento morrón se incrementaron un 36%, alcanzando 285 mil 339 toneladas enviadas principalmente a Estados Unidos, aportando 550 millones dólares (SAGARPA, 2012). Por su parte la FAO (2014) indica que México tiene el 20% de participación. La producción de pimiento morrón representa una alternativa económica muy atractiva durante el ciclo otoño-invierno, debido al elevado rendimiento, alta calidad del fruto y elevados precios que alcanza éste durante la época invernal; sin embargo, dicha actividad productiva debe llevarse a cabo en invernaderos, por las restricciones ambientales que limitan el cultivo a cielo abierto en esa época (Moreno *et al.*, 2011).

### **3.6. Beneficios de la inoculación con hongos micorrízicos arbusculares (HMA)**

Los HMA son los componentes bióticos omnipresentes en los ecosistemas terrestres, estableciendo fácilmente simbiosis con más del 80% de las especies de plantas terrestres (Smith y Read, 2008). La promoción de la absorción de nutrientes (sobre todo la absorción de P) por la simbiosis micorrízica ha sido profundamente estudiada y aclarada en décadas anteriores (Smith *et al.*, 2011). Otras funciones de los HMA se relacionan con el aumento de resistencia a patógenos (Wehner *et al.*, 2010). Estos hongos pueden aumentar

la resistencia de la planta a patógenos a través de la promoción de síntesis de compuestos fenólicos; sin embargo, la vía de señalización responsable de la misma sigue siendo poco clara (Rui-Qin *et al.*, 2013)

Por lo tanto, la inoculación de HMA a nivel de almácigos para la producción de plántulas hortícolas puede beneficiar a que dichas plántulas se desarrollen de una forma adecuada, promoviendo el crecimiento de la planta por medio de una mayor asimilación de nutrimentos como el fósforo y el nitrógeno (Fellbaum *et al.*, 2012). La planta al ser llevada a campo y trasplantada llevaría consigo el hongo micorrízico, el cual, haría más fácil su establecimiento.

### **3.6.1. Los HMA en la nutrición de las plantas**

En particular, los HMA pueden mejorar la captación de micronutrientes y otros nutrientes minerales con baja movilidad incluyendo Zn, Cu y Fe (Baslam *et al.*, 2013). La colonización micorrízica mejoró el contenido de todos los macro y micronutrientes cuando las plantas fueron fertilizadas con un bajo nivel de P y N (Baslam *et al.*, 2013; Ortas y Ustuner, 2014; Xie *et al.*, 2014). Yaseen *et al.* (2012) registraron los niveles máximos de nutrimentos (Ca, K, Mg, P, Fe y Si) en plantas de garbanzo inoculadas con HMA. El desarrollo de una extensa red de hifas en el suelo mejora los efectos de un pH extremadamente bajo a través de una mejor absorción de P (Muthukumar *et al.*, 2014). Aproximadamente el 80% del total de P adquirido por *Medicago truncatula* fue proporcionado por el micelio extrarradical de sus hongos asociados (Smith *et al.*, 2000). Rohyadi (2008) observó una mejora en la captación de P en el maíz colonizado por *Gigaspora margarita* bajo condiciones ácidas y propuso que el aumento de los niveles de P

en los tejidos de plantas de maíz podría deberse a una mejor absorción de nutrientes por las hifas del HMA (Muthukumar *et al.*, 2014).

Así mismo los HMA ayudan a mitigar la intoxicación por elementos perjudiciales. La existencia de una alta concentración de  $Al^{3+}$  en el suelo es perjudicial para la supervivencia y la actividad de los microorganismos. Sin embargo, la asociación de HMA puede reducir absorción de  $Al^{3+}$  por las raíces y su translocación dentro de las plantas (Muthukumar *et al.*, 2014). Además, la producción de exudados por el micelio extra-radical puede resultar en la quelación de metales en la micorrizosfera (Muthukumar *et al.*, 2014). La producción de la proteína (glomalina) en el suelo es directamente proporcional a las condiciones adversas del suelo, especialmente el pH bajo (Cornejo *et al.*, 2008; Vodnik *et al.*, 2008). La exudación de ácidos orgánicos por las hifas de HMA especialmente el citrato, malato y acetato pueden mejorar las tolerancia a la toxicidad de Al (Tawaraya *et al.*, 2006; Toljander *et al.*; Plassard y Fransson 2009; Muthukumar *et al.* 2014). Por lo tanto, las raíces colonizadas por HMA están bien protegidas por la extensa red de hifas, exudados radicales y mecanismos de desintoxicación contra los efectos nocivos de los metales (Muthukumar *et al.*, 2014).

### **3.7. Beneficios de la inoculación con bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV)**

De acuerdo con Kloepper y Schroth (1981), la promoción del crecimiento de plantas mediada por las BPCV, se produce por la alteración de toda la comunidad microbiana en el nicho de la rizosfera a través de la producción de varias sustancias (Kloepper y Schroth, 1981). En general, las BPCV promueven el crecimiento de las plantas ya sea directamente por la adquisición facilitada de nutrientes (nitrógeno, fósforo y minerales esenciales),

modulación de los niveles de hormonas de plantas, o indirectamente por la inhibición de los efectos de diversos patógenos que dañan el crecimiento y el desarrollo de las plantas, por lo que, las BPCV funcionan como agentes de control biológico (Glick, 2012).

La eficiencia productiva de alguna bacteria promotora del crecimiento vegetal específica, se puede mejorar más con la optimización y la aclimatación de acuerdo con las condiciones del suelo predominantes. Estos microorganismos podrían disminuir el uso de los fertilizantes químicos, plaguicidas y reguladores de crecimiento artificiales que tienen numerosos efectos secundarios en la agricultura. Más investigación y comprensión de los mecanismos de la fitoestimulación de bacterias promotoras del crecimiento allanarán el camino para descubrir cepas más competentes que puedan funcionar en condiciones agroecológicas (Ahemad y Kibret, 2013).

### **3.7.1 Solubilización de fosfato por BPCV**

Aunque la mayoría de los suelos agrícolas contienen cantidades de fosfatos inorgánicos y orgánicos, la mayoría de éstos están inmovilizados y no están disponibles para las plantas. Al igual que Fe, el fósforo (P) no es fácilmente disponible para las plantas debido a su alta reactividad con algunos complejos metálicos, que conducen a la precipitación o adsorción de un 75-90% de P en el suelo (Adesemoye y Kloepper, 2009). En tales suelos, la corrección de la deficiencia de P se lleva a cabo, mediante la aplicación de fertilizante fosfatados, en particular, en suelos caracterizados por fijar el P (Horst *et al.*, 2001). Por otro lado, la solubilización inorgánica del fósforo ocurre como resultado de la acción de ácidos orgánicos de bajo peso molecular, tales como el ácido cítrico que son sintetizados por diferentes bacterias del suelo (Glick, 2012). Estos ácidos orgánicos de bajo peso molecular tienen grupos hidroxilo y carboxilo que pueden quelatar los cationes unidos

al fosfato que resultan en la conversión de fósforo insoluble en su forma soluble. Por otro lado, la mineralización de fósforo se realiza mediante la síntesis de diferentes fosfatasas que catalizan la hidrólisis del ácido fosfórico (McComb *et al.*, 2013). Más importante aún, la solubilización y la mineralización del fosfato pueden coexistir en la misma bacteria (Pereira y Castro, 2014). Entre las bacterias que poseen la capacidad de solubilizar el fósforo inorgánico insoluble, se encuentran *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Burkholderia*, *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Micrococcus*, *Acetobacter*, *Flavobacterium* y *Erwinia*. Generalmente, las bacterias solubilizadoras de fosfato se pueden encontrar en el suelo y en la rizosfera de las plantas. Esto incluye las cepas aerobias y anaeróbicas. Sin embargo, se ha encontrado que mayor número de bacterias solubilizadoras de fosfato, están comúnmente presente en la rizósfera en comparación con la no rizósfera o en el suelo (Youssef y Eissa, 2014).

### **3.7.2. Producción de auxinas por BPCV**

El ácido indolacético (AIA) es la principal auxina natural de las plantas superiores (Taiz y Zeiger, 2009). El AIA puede actuar en muchos procesos fisiológicos de las plantas, por ejemplo en la fotosíntesis y en la síntesis de pigmentos; intervienen en las respuestas a la luz, gravedad y florecencia; controla la biosíntesis de diversos metabolitos; modula la resistencia a condiciones estresantes; controla procesos de crecimiento vegetativo; y actúa más específicamente en la división y diferenciación celular, estimula la germinación de semillas y tubérculos, aumenta el desarrollo radical, e inicia la formación y el desarrollo de raíces laterales y adventicias (Spaepen y Vanderleyden 2011; Taiz y Zeiger 2009). Sin embargo, innumerables bacterias son capaces de sintetizar este ácido como *Azospirillum brasilense*, *A. lipoferum* (Kuss *et al.*, 2007) especies de *Bacillus* y *Paenibacillus* (Beneduzi

*et al.*, 2008), *Providencia* sp. (Rana *et al.*, 2011) y *Pseudomonas fluorescens* (Hernández-Rodríguez *et al.*, 2008). En general, en la asociación entre las plantas y las bacterias, el AIA bacteriano aumenta la superficie y longitud de la raíz, proporcionando a la planta mayor acceso a los nutrientes del suelo; además, el AIA bacteriano debilita las paredes celulares de las plantas y, como resultado, se facilita la exudación de compuestos orgánicos por la raíz, permitiendo más nutrientes para el crecimiento de las bacterias en la rizósfera (Glick, 2012).

La respuesta al AIA varía con el tipo, el grado de sensibilidad y la etapa de desarrollo en la que se encuentra la planta, además del tipo de tejido (raíz, tallos, hojas) a la que este influenciando, por ejemplo, el nivel óptimo de AIA para crecimiento de raíces es de ~5 órdenes de magnitud y esta puede variar para los brotes, tallos y hojas (Taiz y Zeiger 2009). Las BPCV pueden influenciar en las concentraciones de este regulador de crecimiento, sin embargo es importante conocer si el AIA sintetizado por los microorganismos permite estimular o suprimir el crecimiento vegetal (Glick 2012).

La inoculación con *Pseudomonas putida* en semillas de canola (*Brassica campestris*) permite aumentar la longitud de radical (Xie *et al.*, 1996), así mismo *B. subtilis* y *B. licheniformis* en pimiento rojo (*Capsicum annuum*) y tomate (*Solanum lycopersicum*) permiten mayor crecimiento de las plantas mejorando hasta un 20% en el crecimiento de raíz, tallo y foliar (Lim y Kim 2009), debido a que estas cepas bacterianas tienen la capacidad de producir el ácido indolacético.

### **3.8. Beneficios de la interacción HMA y BPCV en las plantas**

Las BPCV secretan compuestos que aumentan la permeabilidad celular y aumentan la tasa de exudación radical de las plantas (Nadeem *et al.*, 2014). Estos exudados nutritivos

facilitan la penetración y colonización de las raíces por hongos micorrízicos (Armada *et al.*, 2015). Los HMA penetran las raíces y aumentan la exploración del suelo mediante el micelio, incrementan la absorción de nutrientes y agua por las plantas (Barzana *et al.*, 2012). Las BPCV no sólo benefician la colonización micorrízica, sino también las funciones adicionales de la absorción de nutrientes. Se ha observado que plantas inoculadas con BPCV y HMA tienen la capacidad de absorber más agua y nutrientes en entornos deficientes de humedad (Ruíz-Sánchez *et al.*, 2011). Esto puede deberse a una arquitectura mejorada de la raíz, que da como resultado un mejor crecimiento y formación de raíces laterales (Hodge y Storer, 2015). La interacción de BPCV+HMA bajo regímenes extremos de agua, también mejora el intercambio del flujo de agua a través de las vías apoplástica y simplástica, mejorando así la tolerancia de las plantas al estrés por sequía (Barzana *et al.*, 2012). La producción y síntesis de algunos compuestos bioactivos contra los patógenos fúngicos de las plantas (Castillo *et al.*, 2002) se consideran otros factores funcionales de la actividad de las interacciones BPCV+HMA (Jansa *et al.*, 2013). Las interacciones BPCV y HMA han sido señaladas como una de las más antiguas, donde ambos microorganismos interactúan positivamente, proporcionando beneficios multifuncionales para mejorar la salud y fertilidad del suelo. Así mismo, las interacciones BPCV+HMA mejoran el funcionamiento de la rizósfera, mitigando el estrés de la planta a través de diversos mecanismos (Vimal *et al.*, 2017).

### **3.9. El uso de BPCV cultivos hidropónicos**

Los sistemas hidropónicos han ganado popularidad en todo el mundo y cada vez se utilizan más para diferentes áreas geográficas (Lee y Lee, 2015). Con el fin de producir más y mejores cultivos hidropónicos, se han modificado y desarrollado diversos sistemas tales

como: el goteo, el flujo de refluo, el cultivo en agua, la técnica de la película de nutrientes, sistema aeropónico, y sistemas de ventanas (Lee y Lee, 2015). La hidroponía tiene muchas ventajas sobre los sistemas de cultivo de campo, tales como: reutilización de agua, facilidad en el control de factores externos y una reducción en prácticas de cultivo tradicionales (por ejemplo, cultivo, deshierbe, riego y labranza) (Son *et al.*, 2016). Sin embargo, también se han identificado varias limitaciones en sistemas de cultivo hidropónico, entre los que destacan el alto coste de preparación, la difusión rápida de patógenos y la necesidad de conocimientos especializados en esta área (Conn *et al.*, 2013). Además, estos sistemas cerrados tienen un riesgo potencial de acumulación de compuestos tóxicos y patógenos dañinos de plantas, por otro lado, los sistemas hidropónicos cerrados pueden provocar la liberación de una gran cantidad de soluciones hidropónicas residuales (Waechter-Kristensen *et al.*, 1999).

Muchos fitopatógenos pueden crecer en sistemas hidropónicos debido a altas concentraciones de nutrientes y luego pueden dañar todo el cultivo mediante la rápida propagación en el sistema de circulación de agua (Hultberg *et al.*, 2011). Entre los diversos enfoques utilizados para mitigar el daño por patógenos, se han utilizado métodos físicos, químicos y biológicos, este último contempla la utilización de rizobacterias que promueven el crecimiento de plantas, que se usan como biofertilizantes, agentes de biocontrol y biorremediadores (Lee y Lee, 2015).

No obstante, *Fusarium*, *Phytophthora* y *Pythium* son los patógenos más comunes de las plantas que se encuentran en los sistemas hidropónicos (Li *et al.*, 2014; O'Neill, 2014). Estos patógenos comunes de las raíces, se propagan a través de sistemas de circulación de agua y causan la pudrición de la raíz en el pepino, pimiento y lechuga cultivados

hidropónicamente (Khan *et al.*, 2003, Stanghellini *et al.*, 1996, Utkhede *et al.*, 2000. En consecuencia, el manejo de las infecciones por hongos es un componente vital de las operaciones hidropónicas. Las medidas para prevenir la contaminación de patógenos incluyen métodos físicos, químicos y biológicos (Igura *et al.*, 2004, Zhang y Tu, 2000). Dosis altas de irradiación ultravioleta y gamma ha sido aplicada para inactivar el crecimiento de patógenos en las soluciones nutritivas y prevenir brotes de enfermedades en sistemas hidropónicos. Además, los tratamientos físicos pueden desinfectar eficazmente la solución nutritiva, manteniendo la rizósfera libre de estos organismos (Yogev *et al.*, 2006). Sin embargo, el alto costo para la instalación y el mantenimiento periódico de los sistemas de desinfección son desafiantes (Lee *et al.*, 2015; Yogev *et al.*, 2006; Zhang y Tu, 2000).

Las estrategias de control químico, como el carbendazim, hymexazol, imidazol, el proclorazazol, etc., suprimen el crecimiento de patógenos o los síntomas de enfermedades de las plantas en sistemas hidropónicos. No obstante, la toxicidad de fungicidas y subproductos generan microorganismos resistentes (Hibar *et al.*, 2006, Song *et al.*, 2004). Estos métodos de control químico, también pueden disminuir la población de microorganismos beneficiosos en sistemas hidropónicos (Hibar *et al.*, 2006). Una alternativa a estos métodos de control son el uso rizobacterias promotoras del crecimiento de las plantas (BPCV) en sistemas hidropónicos. Estos microorganismos se han utilizado en la agricultura como biofertilizantes, agentes de biocontrol y biorremedidores, pero principalmente con la finalidad de favorecer el vigor, sanidad y calidad de las plantas (Kıdoğlu *et al.*, 2009; Lee *et al.*, 2010; Lee *et al.*, 2015; Woitke y Schitzler, 2005). Las BPCV actúan a través de los mecanismos fisiológicos que poseen, tales como la fijación de nitrógeno atmosférico, control del estrés de la planta, extracción de nutrientes del suelo,

competencia con patógenos, producción de diferentes tipos de hormonas, control biológico y promoción del crecimiento vegetal (Kloepper, 1993, Lugtenberg y Kamilova, 2009).

En general, las BPCV pueden desarrollarse rápidamente después de plantar cultivos en sistemas hidropónicos, éstas se pueden alimentar de exudados de plantas, compuestos en solución nutritiva y materiales vegetales muertos (Waechter-Kristensen *et al.*, 1996). La composición de la microflora en sistemas hidropónicos puede verse afectada por factores ambientales y la fuente de nutrientes (Khalil y Alsanius, 2001). Algunos microorganismos que conforman la microflora pueden ser patógenos de las plantas, pero éstos son comúnmente superados en número por la población de organismos no patógenos (Khalil *et al.*, 2001). Otras investigaciones usando *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp. y *Streptomyces griseoviridis* han sugerido que estas bacterias pueden prevenir o disminuir el efecto de los fitopatógenos (Raaijmakers *et al.*, 2010). Cuando se aplicó *Pseudomonas chlororaphis* o *Bacillus cereus* a crisantemos, la infección por *Pythium* disminuyó alrededor del 20% (Liu *et al.*, 2007).

El mecanismo por el cual *Bacillus* spp., promueve el crecimiento de las plantas y previene las enfermedades aún no es muy conocido, pero su efecto se relaciona con la síntesis de antibióticos (Nihorimbere *et al.*, 2012). *Bacillus subtilis*, es bien conocido como potenciador del crecimiento de las plantas con la capacidad de disminuir los efectos de la salinidad en soluciones nutritivas (Bochow 1992; Böhme, 1999). *Bacillus amyloliquefaciens* demostró aumentar la eficiencia en el uso del agua en tomates mejorando la calidad (vitamina C) y cantidad de frutos (8-9%) respecto a los no inoculados (Gül *et al.*, 2008). *Bacillus licheniformis* ha aumentado el diámetro y el peso de tomates y pimientos, y ha promovido mayores rendimientos de cada cultivo (García *et al.*, 2004). *Pseudomonas*

spp., muestra actividad antagónica y antifúngica frente a *Fusarium graminearum* que causa la pudrición radical en tomate, pepino, lechuga y patata, cultivados hidropónicamente, permitiendo un incremento en el peso de las raíces (Peer y Schippers, 1989). En pimiento dulce bajo condiciones hidropónicas, la inoculación con *Pseudomonas chlororaphis* permitió disminuir y controlar la pudrición radical causada por *Pythium aphanidermatum* y *P. dissotocum* (Chatterton *et al.*, 2004). El biofungicida producido por *S. griseoviridis* fue eficaz en la reducción de enfermedades de las plantas causadas por *Rhizoctonia solani* (podredumbre del collar), *Verticillium* spp. y *Fusarium* spp. (Pudrición de raíces) en pepinos y tomates (Rose *et al.*, 2003; Minuto *et al.*, 2006). Se han utilizado productos biofungicidas comerciales basados en *S. griseoviridis* K61, tales como Mycostop y Actinovate, para estimular el crecimiento de las raíces y controlar la enfermedad de la raíz y los síntomas causados por *Botrytis*, *Fusarium*, *Phomopsis*, *Pythium* y *Rhizoctonia*, bajo sistemas hidropónicos (Khalil *et al.*, 2009).

### **3.10. HMA en cultivos hidropónicos**

Existen estudios científicos sobre el uso de HMA en los sistemas de cultivo sin suelo; sin embargo, el efecto benéfico y estimulante del HMA en el crecimiento de las plantas aún no es muy claro (Lee y George, 2005). Se han desarrollado diversas técnicas para producir inóculos de HMA, en su mayoría se basan en la utilización de suelos y sustratos, pero los hay libres de sustratos (hidroponía y aeroponía) y métodos de cultivo invitro (Ijdo *et al.*, 2011). Lee y George (2005) mencionan que la simbiosis micorrízica puede ser favorecida al usar sustratos orgánicos (por ejemplo, fibra de coco) y podrían ser aplicadas a plantas hortícolas de las familias *Aliaceae*, *Solanaceae* y *Cucurbitaceae*.

Cuando el sistema cambia a un cultivo hidropónico o se utiliza un sustrato menos inerte, la colonización micorrízica se vuelve menos eficiente. En la mayoría de casos, los sistemas funcionan solamente cuando las plantas cultivadas son pre-inoculadas y el cultivo establece todas las condiciones que son favorables para los HMA (Hawkins y George, 1997). Una baja concentración de P soluble en la solución nutritiva parece ser particularmente importante para la simbiosis micorrízica (Colla *et al.*, 2008).

La importancia de este trabajo radica en la utilización de las BPCV y HMA en los cultivo de importancia agrícola, como una de las alternativas para reducir el uso de productos químicos, que a largo plazo causan deterioro y contaminan al ecosistema suelo-agua-planta-atmosfera. Con este trabajo se pretende generar una biotecnología basada en microorganismos benéficos que permitan mejorar la calidad, vigorosidad y productividad de las plantas de chile Bell Pepper, siendo éste, uno de los primeros estudios en relación al cultivo y al uso de microorganismos vivos.

## CAPÍTULO IV.

### CRECIMIENTO, Y EFICIENCIA FOTOQUÍMICA DEL FOTOSISTEMA II EN PLÁNTULAS DE DOS VARIEDADES DE *Capsicum annuum* L. INOCULADAS CON RIZOBACTERIAS Y HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES\*

Esta investigación seleccionó bacterias promotoras del crecimiento (BPCV) y hongos micorrízicos arbusculares (HMA) con base en su efecto en plantas de chile Bell pepper y jalapeño. Se utilizaron cinco cepas bacterianas aisladas de diferentes localidades del Estado de México [P61 (*Pseudomonas tolaasii*), A46 (*Pseudomonas tolaasii*), R44 (*Bacillus pumilus*), BSP1.1 (*Paenibacillus* sp.) y OLS-Sf5 (*Pseudomonas* sp.)], y tres tratamientos con HMA [H1 (consorcio aislado de la rizosfera de chile en el estado de Puebla), H2 (*Rhizophagus intraradices*) y H3 (consorcio aislado de la rizosfera de limón del estado de Tabasco). Además, se incluyó un tratamiento fertilizado (solución Steiner 25%) y un testigo absoluto. Plántulas de chile jalapeño “Caloro” y Pimiento Bell Pepper “California Wonder”, fueron inoculadas con HMA al momento de la siembra y con BPCV 15 días después de emerger, y crecidas bajo condiciones de cámara de ambiente controlado. En chile Jalapeño la mejor cepa bacteriana fue P61 y el mejor consorcio de HMA fue H1. En Bell Pepper, la mejor cepa fue R44 y los mejores HMA fueron H3 y H1. Estos microorganismos incrementaron el crecimiento de plántulas de chile Jalapeño y Bell

---

\* Este capítulo fue aceptado para su publicación en la Revista Argentina de Microbiología (ISI/JCR). Ver anexo 1.

Pepper, en comparación con el testigo sin fertilizar. Así mismo, P61 y R44 beneficiaron positivamente la capacidad fotosintética del PSII.

**Palabras clave:** Hongos micorrízicos, rizobacterias, promoción de crecimiento.

## **CHAPTER IV.**

### **GROWTH AND PHOTOCHEMICAL EFFICIENCY OF PHOTOSYSTEM II IN TWO VARIETIES OF *Capsicum annuum* L. INOCULATED WITH RHIZOBACTERIA AND ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI**

This research evaluated the effects of five plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and three consortia of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on Bell Pepper and Jalapeno plants. The inoculated bacterial strains were P61 (*Pseudomonas tolaasii*), A46 (*Pseudomonas tolaasii*), R44 (*Bacillus pumilus*), BSP1.1 (*Paenibacillus* sp.), and OLS-Sf5 (*Pseudomonas* sp.); and the inoculated AMF consortia were H1 (isolated from pepper crops, Puebla State), H2 (*Rhizophagus intraradices*), and H3 (isolated from the rhizosphere of lemon trees, Tabasco State). In addition, a fertilized treatment (25 % of Steiner nutrient solution) and an unfertilized control were also considered. Seeds of Jalapeno pepper "Caloro" and Bell Pepper "California Wonder" were inoculated with the AMF at sowing, and PGPR were inoculated after 15 days of seedling emergence. Seedlings were kept under growth chamber conditions. For Jalapeno pepper, the bacteria P61 and the AMF H1 were the most effective microorganisms; whereas bacteria R44 and AMF H3 and H1 were the most effective for Bell Pepper, when compared to unfertilized control. Bacteria P61 and R44 benefited the PSII efficiency. The application of these beneficial microorganisms may contribute on reducing chemical fertilization on the pepper crop.

**Keywords:** Mycorrhizal fungi, rhizobacteria, growth promotion.

#### 4.1. INTRODUCCIÓN

México es uno de los principales países productores de chile en el mundo y con mayor diversidad genética de *Capsicum* (Ramírez, 1996; FAOSTAT, 2013). Las variedades de chile más cultivadas en el norte del país son Bell Pepper y Jalapeño, cuyo manejo demanda altas cantidades de fertilizante químicos que no son completamente aprovechados por las plantas, resultando en altos costos de producción y contaminación potencial en el suelo (Gyaneshwar *et al.*, 2002; Villarreal-Romero *et al.*, 2006; Salazar-Jara y Juárez-López, 2013). Los fertilizantes nitrogenados son los más utilizados en cultivos hortícolas y su sobreuso genera impactos ambientales a gran escala, que ponen en peligro la sostenibilidad de los ecosistemas al causar eutricación y contribuir en el calentamiento global al ser fuente importante de óxido nitroso (N<sub>2</sub>O) (Galloway *et al.*, 2008; Díaz y Rosenberg, 2008; Hoben *et al.*, 2011).

Una alternativa al problema de sobrefertilización es el uso de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV) y hongos micorrízicos arbusculares (HMA), con los cuales es posible desarrollar sistemas amigables con el ambiente (agricultura ecológica), reducir la aplicación de fertilizantes químicos, y mantener una producción sostenible (Gomiero *et al.*, 2011). Las BPCV cohabitan la rizosfera y pueden beneficiar la salud vegetal, estimular el crecimiento de las plantas, y proteger contra patógenos (Son *et al.*, 2014); además, pueden reducir los efectos del estrés abiótico, favorecer el rendimiento de los cultivos al participar en el reciclaje de nutrimentos y en la fertilidad del suelo (Babalola, 2010; Glick, 2012).

Los HMA son importantes en la agricultura ecológica por los beneficios que tienen en los cultivos agrícolas al actuar como movilizadores de agua y nutrientes como fósforo,

zinc y cobre, y como agentes de control biológico (Lehmann y Rillig 2015; Smith *et al.*, 2015; Marques *et al.*, 2006). También, pueden aumentar la tolerancia de las plantas a diversos factores de estrés abióticos tales como sequía, niveles excesivos de elementos tóxicos, salinidad y desequilibrios o deficiencias de nutrientes (Ortas, 2003; Zhao *et al.*, 2015; Rouphael *et al.*, 2015;). Algunas hortalizas que en su inicio requieren una etapa de vivero, como es el caso del chile (*Capsicum annuum* L.), puede tener beneficios por inoculación de HMA (Castillo *et al.*, 2009).

Algunos estudios muestran el beneficio de BPCV y HMA en plántulas de chile. Flores *et al* (2010), observaron que *Azospirillum brasilense* y *Pantoea dispersa* favorecen la nutrición por nitrógeno y el crecimiento de plántulas de pimiento, especialmente cuando *Azospirillum* y *Pantoea* se combinaron con bajos niveles de NO<sub>3</sub>. Así mismo, la bacteria *K. pneumoniae* y el HMA *G. intraradices* favorecieron la altura, la longitud de la raíz y el peso seco de plantas de chile, con respecto a las plantas sin inoculación (Rueda-Puente *et al.*, 2010). La inoculación de *Glomus intraradices* y *Gigaspora margarita* en ocho diferentes genotipos de pimiento en condiciones de cámara de crecimiento, resultó en mayor peso seco en comparación con las plantas no inoculadas (Sensoy *et al.*, 2007). Además, los efectos benéficos de la colonización con HMA en el crecimiento de *Capsicum annuum* cv. 11B 14 se han relacionado con una mejor adaptación en condiciones de salinidad (Kaya *et al.*, 2009).

A pesar de los beneficios mencionados, se tiene limitada información sobre el beneficio de bacterias como *Paenibacillus* sp. *Pseudomonas* sp. y *Bacillus pumilus*, así como, el efecto de consorcios micorrízicos arbusculares en la promoción del crecimiento vegetal en plántulas de chile. Por lo anterior, la presente investigación se enfocó a evaluar

el efecto de cinco cepas de BPCV y HMA, en el crecimiento y eficiencia del fotosistema II de plántulas de chile Bell Pepper y Jalapeño, en condiciones controladas.

## **4.2 MATERIALES Y MÉTODOS**

### **4.2.1 Material vegetal y condiciones del experimento**

El experimento se llevó a cabo en una cámara de ambiente controlado (28 °C de temperatura, 70 % de humedad relativa, 12 h de fotoperiodo). Se utilizaron semillas de chile jalapeño variedad Jalapeño M.P.A “Caloro” (Mexicana Industrial de Insumos Agropecuarios S.A. de C.V.), y semillas de chile Bell Pepper variedad pimiento “California Wonder” (Distribuidora Rancho Los Molinos S.A. de C.V.), ambas con germinación mayor del 89%.

### **4.2.2. Material microbiológico**

Se utilizaron las cepas bacterianas A46 y P61 (*Pseudomonas tolaasii*), R44 (*Bacillus pumilus*), BSP1.1 (*Paenibacillus* sp.) y OLS-Sf5 (*Pseudomonas* sp.). Además, se utilizaron dos consorcios de HMA: H1 (consorcio aislado de la rizosfera de chile en el estado de Puebla compuestos por *Funneliformis aff. geosporum* y *Claroideoglopus* sp. con un contenido de 2590 esporas por 100 g de suelo seco), H2 (raíces frescas fragmentadas de pasto *L. multiflorum* con 86% de colonización por *R. intraradices*) y H3 (raíces frescas fragmentadas de pasto *Lolium multiflorum* con 93% de colonización por un consorcio de HMA compuesto por *Rhizophagus fasciculatus*, *Glomus* sp., y *Archaeospora* sp., aislado de la rizósfera de limón del estado de Tabasco). Estos consorcios fúngicos se consideraron en

función del beneficio que aportan a sus hospedantes y que están continuamente propagados en condiciones de invernadero para uso en investigación

#### **4.2.3. Preparación del inóculo bacteriano**

Cada una de las cepas bacterianas fue crecida en caldo nutritivo a 28 °C por 72 h, y posteriormente se centrifugaron a 7000 rpm por 15 minutos para separar el concentrado microbiano del medio de cultivo. Este concentrado se resuspendió en agua destilada estéril y centrifugado en dos ocasiones con el propósito de eliminar los nutrientes residuales del inóculo. La concentración de células bacterianas en los inóculos P61, R44, OLS-Sf5, A46 y BSP1.1, fue  $1.68 \times 10^8$ ,  $2.45 \times 10^8$ ,  $3.73 \times 10^8$ ,  $8.6 \times 10^8$  y  $4.0 \times 10^5$  UFC mL<sup>-1</sup>, respectivamente.

Algunas características reportadas para el género y especie de las BPCV utilizadas en este experimento son: *Pseudomonas tolaasii* produce auxinas y solubiliza fosfato (Dell'Amico *et al.*, 2008), *Paenibacillus* sp. promueve el crecimiento, solubiliza fosfato y produce auxinas (Govindasamy y Senthilkumar 2011), *Pseudomonas* sp. produce auxinas y solubiliza fosfato (Noori y Saud, 2012), y *Bacillus pumilus* promueve el crecimiento, solubiliza fosfato y produce auxinas (Kumar *et al.*, 2011). Estas características fueron corroboradas en las cepas utilizadas en este experimento, P61 y A46 solubilizan fosfato, producen auxinas y sideróforos, mientras que R44, OLS-Sf5 y BSP1.1, producen auxinas y solubilizan fosfato (Pineda-Mendoza, 2015; Almaraz-Suárez JJ, resultados no publicados).

#### **4.2.4. Siembra de la semilla e inoculación**

La siembra de las semillas se realizó en charolas de unicel de 200 cavidades, de las cuales se cortaron secciones de 20 cavidades cada una (una sección por tratamiento). Se sembró una semilla por cavidad en un sustrato conformado por arena, turba y perlita (2:1:1 v/v), previamente esterilizado (121 °C durante 3 h, por dos días consecutivos).

La inoculación por los HMA H2 y H3, se realizó al momento de la siembra, colocando 0.5g de fragmentos de raíces del pasto (*L. multiflorum*) a una profundidad de 2 cm del cepellón. Por otra parte, el HMA H1, se mezcló al momento de la siembra con el sustrato a una proporción de 1:4 v/v, respectivamente. La inoculación de las cepas bacterianas se llevó a cabo 15 días después de la germinación del material vegetal, colocando 2 mL de inóculo por planta dirigidos a la raíz; el testigo con fertilización (solución de Steiner al 25 %) y testigo sin fertilización, se mantuvieron sin inoculación. En el caso del testigo con fertilización se utilizó la solución de Steiner ajustada a una conductividad eléctrica de 0.5 dS m<sup>-1</sup>, con (mg L<sup>-1</sup>): 265.5 de Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>•4H<sub>2</sub>O, 78.0 de KNO<sub>3</sub>, 67.5 de K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 123.0 MgSO<sub>4</sub>•7H<sub>2</sub>O, y 34.0 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, ajustando el pH a 6.5.

#### **4.2.5. Variables evaluadas**

Después de 70 días, las plantas fueron evaluadas y cosechadas, y se les midió altura de planta, diámetro de tallo, volumen radical, número de hojas, área foliar, área foliar específica, peso seco de hojas y total, eficiencia fotoquímica del fotosistema II (Fv/Fo), y colonización micorrízica. El área foliar específica se estimó dividiendo el área foliar, entre el peso seco de las hojas (cm<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>). El volumen radical se midió utilizando la técnica de desplazamiento de agua (Böhm, 1979), la raíz completa, se sumergió en una probeta graduada con un determinado volumen de agua, el volumen de agua desplazado por la raíz se expresó en cm<sup>3</sup>. El área foliar fue determinada con un medidor de área foliar marca LICOR (LI 3000, Inc. Lincoln, NE, EUA). La biomasa seca se obtuvo al secar (70 °C por 72 h) y pesar por separado hojas, tallos y raíces, en una balanza analítica (Sartorius, Modelo Analytic AC 210S, Illinois, USA). La eficiencia fotoquímica del fotosistema II (Fv/Fo) se midió con un fluorómetro OS-30p+ (Opti-Sciences) considerando lecturas en la hoja más

recientemente madura. El porcentaje de colonización micorrízica se evaluó con la técnica de clareo y tinción (Phillips y Hayman, 1970).

#### **4.2.6. Tratamientos y diseño experimental**

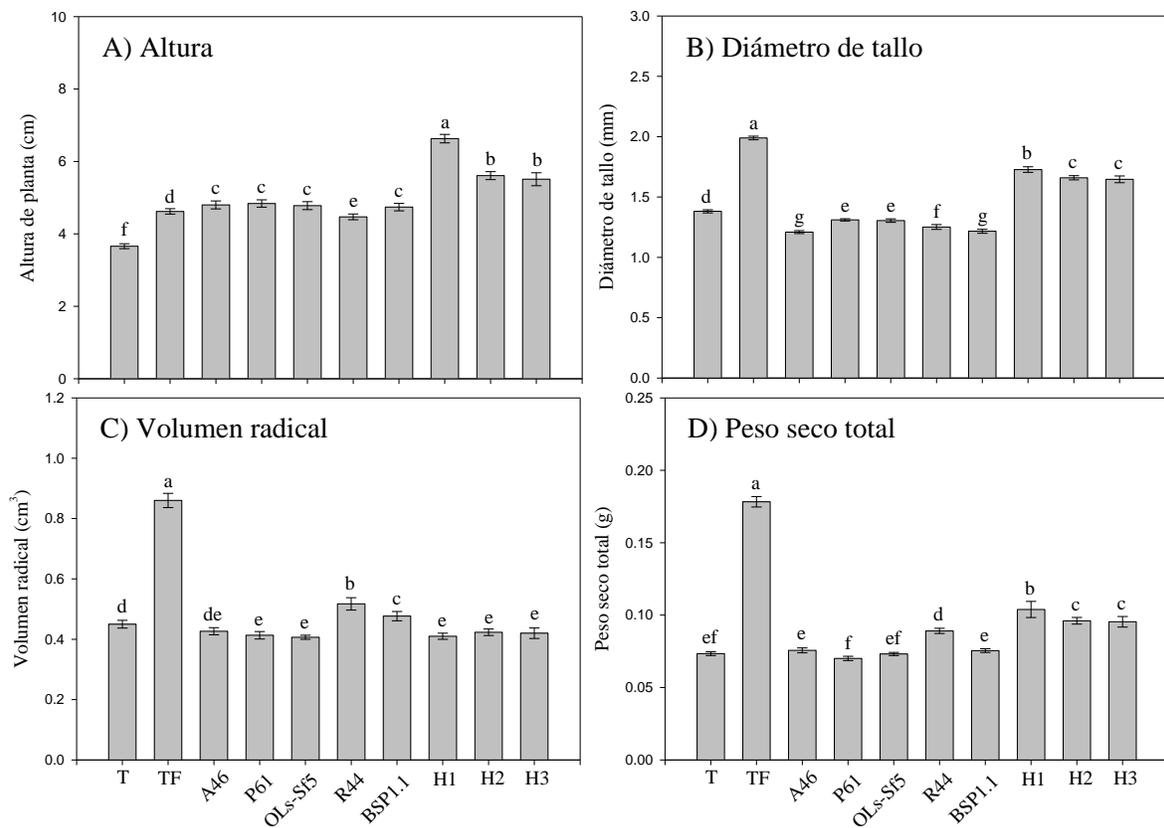
El experimento contempló un diseño experimental completamente al azar con 10 tratamientos (cinco cepas de BPCV, tres inóculos de HMA, y dos testigos, uno con fertilización química y un testigo absoluto sin fertilizar), y 15 repeticiones cada uno. Lo que originó un total de 150 unidades experimentales por cada variedad de chile. Los datos fueron analizados mediante el programa SAS para Windows (SAS Institute Inc. 2002), realizando un análisis de varianza y prueba de comparación de medias (LSD,  $\alpha=0.05$ ).

#### **4.3. RESULTADOS**

En la Figura 4.1A y 4.2A, se observa que los tratamientos con HMA mostraron mayor altura de planta en ambos cultivares de chile; en pimiento Bell Pepper el tratamiento con H1 fue estadísticamente superior ( $P \leq 0.05$ ) a los demás tratamientos, mientras que para chile Jalapeño los tratamientos H1 y H3 mostraron mayor altura. En cuanto a la inoculación de las bacterias, las plantas de pimiento Bell Pepper inoculadas con A46, P61, OLS-Sf5, R44 y BSP1.1, mostraron significativamente ( $P \leq 0.05$ ) mayor altura con respecto al testigo y al testigo fertilizado (Figura 4.1A). En el caso de chile Jalapeño, la inoculación de las bacterias no mostró efectos significativos en la altura en comparación con el testigo y al testigo fertilizado (Figura 4.2A).

Los testigos fertilizados mostraron mayor diámetro de tallo en ambos cultivares de chile, como se observa en la Figura 4.1B y 4.2B; en pimiento Bell Pepper el tratamiento con H1 fue estadísticamente superior ( $P \leq 0.05$ ) a los demás tratamiento, pero menor al testigo fertilizado, mientras que para chile Jalapeño, H3 fue estadísticamente superior ( $P \leq$

0.05) que los demás tratamiento con HMA. En cuanto a la inoculación con bacterias, las plantas de pimiento Bell Pepper inoculadas con A46, P61, OLS-Sf5, R44 y BSP1.1 mostraron significativamente ( $P \leq 0.05$ ) menor diámetro con respecto al testigo y al testigo fertilizado (Figura 4.1B). En el caso de chile Jalapeño, la inoculación con bacterias fue estadísticamente superior ( $P \leq 0.05$ ) al testigo sin fertilizar, siendo R44 superior estadísticamente ( $P \leq 0.05$ ) que el resto de los inóculos bacterianos (Figura 4.2B).



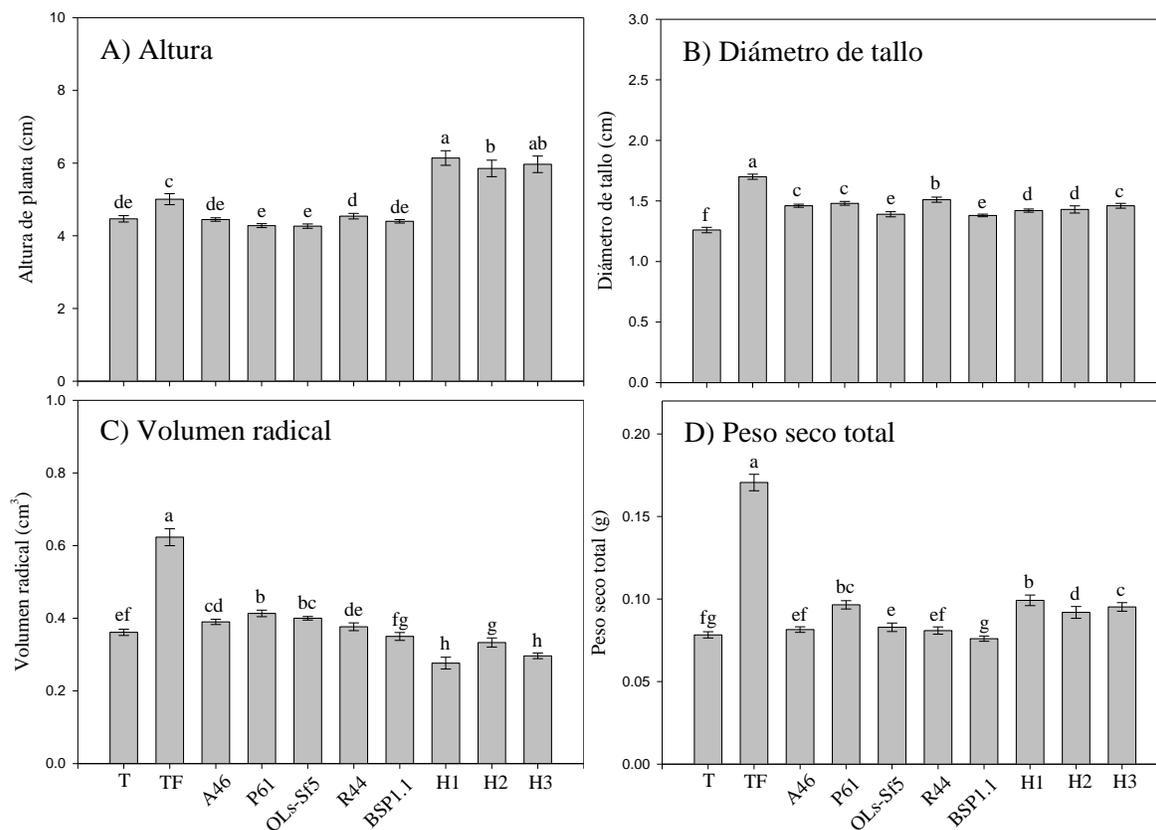
**Figura 4.1.** Altura (A), diámetro de tallo (B), volumen radical (C), y peso seco total (D) de plantas de chile (*Capsicum annuum*) pimiento Bell Pepper, por efecto de la inoculación de cepas bacterianas promotoras del crecimiento vegetal, y consorcios de hongos micorrízicos arbusculares, después de 70 días. n = 15. Medias  $\pm$  Error estándar. Letras idénticas sobre las barras en su correspondiente gráfica, son estadísticamente iguales (LSD,  $\alpha = 0.05$ ). Abreviaturas: A46= *Pseudomonas tolaasii*, P61 = *Pseudomonas tolaasii*, OLS-Sf5 = *Pseudomonas* sp., R44= *Bacillus pumilus*, BSP1.1 = *Paenibacillus* sp., H1 = *Funneliformis aff. geosporum* y *Claroideoglosum* spp., H2 = *Rhizophagus intraradices*., H3 = *Rhizophagus fasciculatus*, *Glomus* sp., y *Archaeospora* sp., T= Testigo absoluto, y TF= Testigo fertilizado.

En la figura 4.1C y 4.2C, se observa que el tratamiento con el testigo fertilizado mostró mayor volumen radical en ambos cultivares de chile; en pimiento Bell Pepper los tratamientos inoculados con bacterias R44 y BSP1.1, mostraron significativamente ( $P \leq 0.05$ ) mayor volumen radical con respecto a A46, P61, OLS-Sf5, al testigo sin fertilizar y a los tratamientos inoculados con HMA (Figura 4.1C). En cuanto a la inoculación de bacterias, las plantas de chile Jalapeño inoculadas con A46, P61 y OLS-Sf5, mostraron significativamente ( $P \leq 0.05$ ) mayor volumen con respecto al testigo. En el caso de las plantas de chile Jalapeño, inoculadas con los tratamientos de HMA no mostró efectos significativos en volumen radical con respecto al testigo (Figura 4.2C).

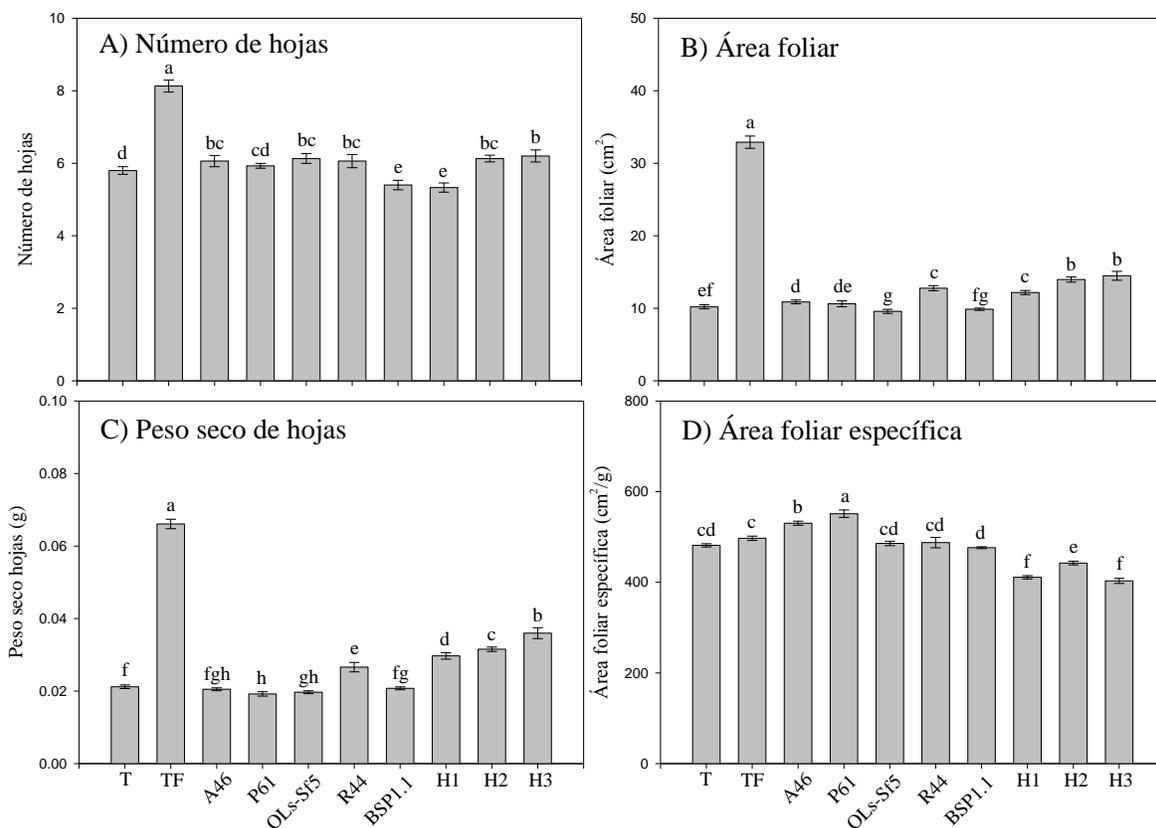
El testigo con fertilización en ambos cultivares de chile, mostró mayor peso seco total como se observa en la Figura 4.1D y 4.2D; en pimiento Bell Pepper el tratamiento con HMA H1 fue estadísticamente superior ( $P \leq 0.05$ ) a los demás tratamientos, excepto al testigo fertilizado, lo mismo se observó para el chile Jalapeño H1 mostró significativamente ( $P \leq 0.05$ ) mayor peso seco total que los demás tratamientos, excepto al testigo fertilizado y P61.

En cuanto a la inoculación de bacterias, las plantas de pimiento Bell Pepper inoculadas con R44, mostraron significativamente ( $P \leq 0.05$ ) mayor peso seco total que el testigo sin fertilizar (Figura 4.1D). En el caso de chile Jalapeño, la inoculación de bacterias

con el tratamiento P61, mostró significativamente ( $P \leq 0.05$ ) mayor peso seco total que el testigo sin fertilizar (Figura 4.2D).



**Figura 4.2.** Altura (A), diámetro de tallo (B), volumen radical (C), y peso seco total (D) de plantas de Chile (*Capsicum annuum*) jalapeño, por efecto de la inoculación de cepas bacterianas promotoras del crecimiento vegetal, y consorcios de hongos micorrízicos arbusculares, después de 70 días.  $n = 15$ . Medias  $\pm$  Error estándar. Letras idénticas sobre las barras en su correspondiente gráfica, son estadísticamente iguales (LSD,  $\alpha = 0.05$ ). Abreviaturas: A46= *Pseudomonas tolaasii*, P61 = *Pseudomonas tolaasii*, OLS-Sf5 = *Pseudomonas* sp., R44= *Bacillus pumilus*, BSP1.1 = *Paenibacillus* sp., H1 = *Funneliformis aff. geosporum* y *Claroideoglossum* spp., H2 = *Rhizophagus intraradices*, H3 = *Rhizophagus fasciculatus*, *Glomus* sp., y *Archaeospora* sp., T= Testigo absoluto, y TF= Testigo fertilizado.



**Figura 4.3.** Número de hojas (A), Área foliar (B), peso seco de hojas (C), área foliar específica (D) plantas de chile (*Capsicum annuum*) pimiento Bell Pepper, por efecto de la inoculación de cepas bacterianas promotoras del crecimiento vegetal, y consorcios de hongos micorrízicos arbusculares, después de 70 días. n = 15. Medias ± Error estándar. Letras idénticas sobre las barras en su correspondiente gráfica, son estadísticamente iguales (LSD,  $\alpha = 0.05$ ). Abreviaturas: A46= *Pseudomonas tolaasii*, P61 = *Pseudomonas tolaasii*, OLS-Sf5 = *Pseudomonas* sp., R44= *Bacillus pumilus*, BSP1.1 = *Paenibacillus* sp., H1 = *Funneliformis aff. geosporum* y *Claroideoglomus* spp., H2 = *Rhizophagus intraradices*, H3 = *Rhizophagus fasciculatus*, *Glomus* sp., y *Archaeospora* sp., T= Testigo absoluto, y TF= Testigo fertilizado.

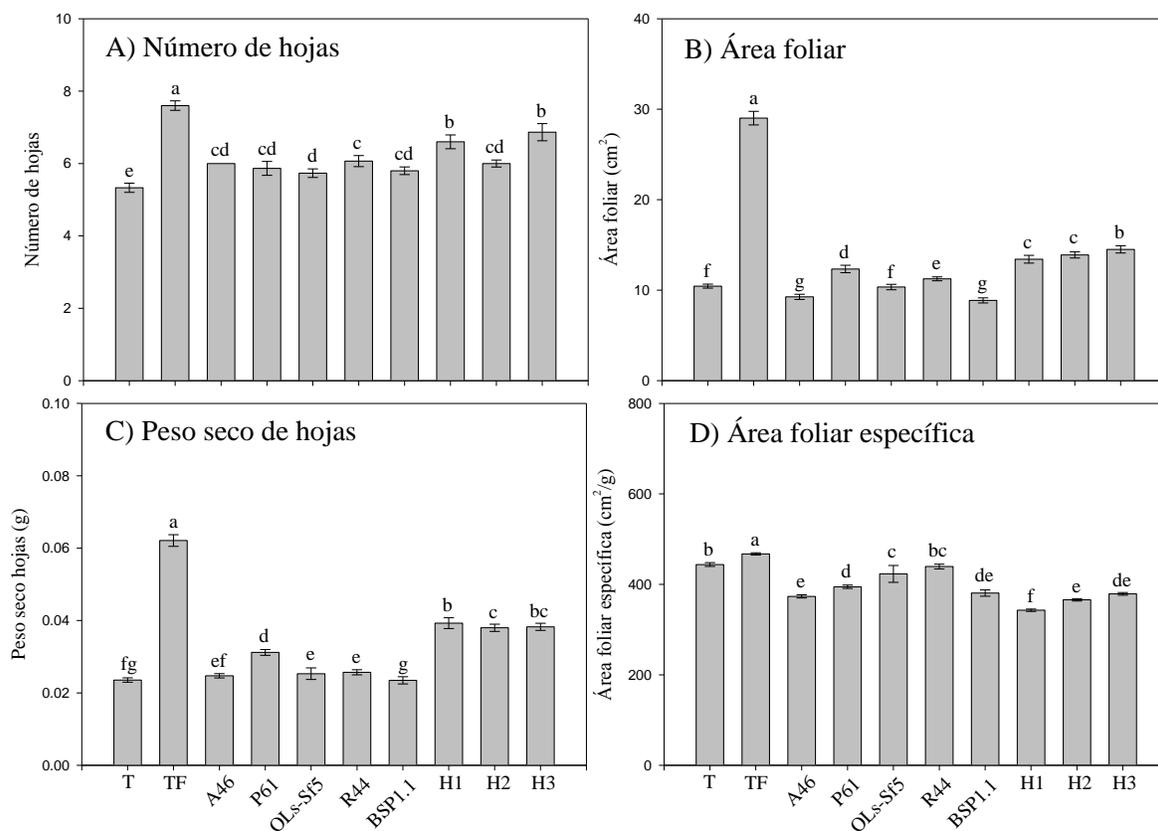
En la Figura 4.3A y 4.4A, se observa que el testigo fertilizado mostró mayor número de hojas en ambos cultivares de chile; en pimiento Bell Pepper los tratamientos inoculados con bacterias A46, OLS-Sf5 y R44 fueron estadísticamente ( $P \leq 0.05$ ) mayor que el testigo. En cuanto a las plantas de chile Jalapeño inoculadas con bacterias A46, P61, OLS-Sf5, R44 y BSP1.1, estas mostraron significativamente mayor número de hojas que el testigo (Figura 4.4A). En la figura 4.3A se observa que los tratamientos con HMA H2 y H3

inoculados en plantas de pimiento Bell Pepper, fueron estadísticamente ( $P \leq 0.05$ ) superiores en número de hojas que el testigo. Mientras que en Chile Jalapeño los inóculos con HMA, H1, H2 y H3, fueron estadísticamente ( $P \leq 0.05$ ) mayores en número de hojas en relación al testigo (Figura 4.4A).

El testigo con fertilización en ambos cultivares de Chile, mostró superior área foliar como se muestra en la figura 4.3B y 4.4B; en cuanto a la inoculación de bacterias, las plantas de pimiento Bell Pepper inoculadas con A46, P61 y R44, mostraron significativamente ( $P \leq 0.05$ ) mayor área foliar en comparación con el testigo (Figura 4.3B). En cuanto a las plantas de pimiento Bell Pepper inoculadas con los HMA H1, H2 y H3, fueron significativamente ( $P \leq 0.05$ ) superiores en área foliar con respecto al testigo (Figura 4.3B). En el caso de las plantas de Chile Jalapeño inoculadas con las bacterias P61 y R44, mostraron efectos significativos ( $P \leq 0.05$ ) mayores en área foliar en comparación con el testigo (Figura 4.4B).

En la Figura 4.3C y 4.4C, se observa que el testigo fertilizado mostró mayor peso seco de hoja en ambos cultivares de Chile; en pimiento Bell Pepper, las plantas inoculadas con la bacteria R44 fue estadísticamente superior ( $P \leq 0.05$ ) a los demás tratamientos bacterianos y al testigo (Figura 4.3C). En cuanto a la inoculación de bacterias, las plantas de Chile Jalapeño inoculadas con P61, mostraron significativamente ( $P \leq 0.05$ ) mayor peso seco de hojas en comparación con los demás tratamientos bacterianos y el testigo (Figura 4.4C). En el caso de las plantas de pimiento Bell Pepper inoculadas con HMA H3, estas fueron estadísticamente ( $P \leq 0.05$ ) superiores en peso seco de hojas en comparación con los demás tratamientos, excepto el testigo fertilizado (Figura 4.3C). Respecto a la inoculación con HMA, las plantas de Chile Jalapeño inoculadas con H1 mostraron significativamente ( $P \leq$

0.05) mayor peso seco de hojas en comparación con los demás tratamientos, excepto con H3 y el testigo fertilizado (Figura 4.4C).



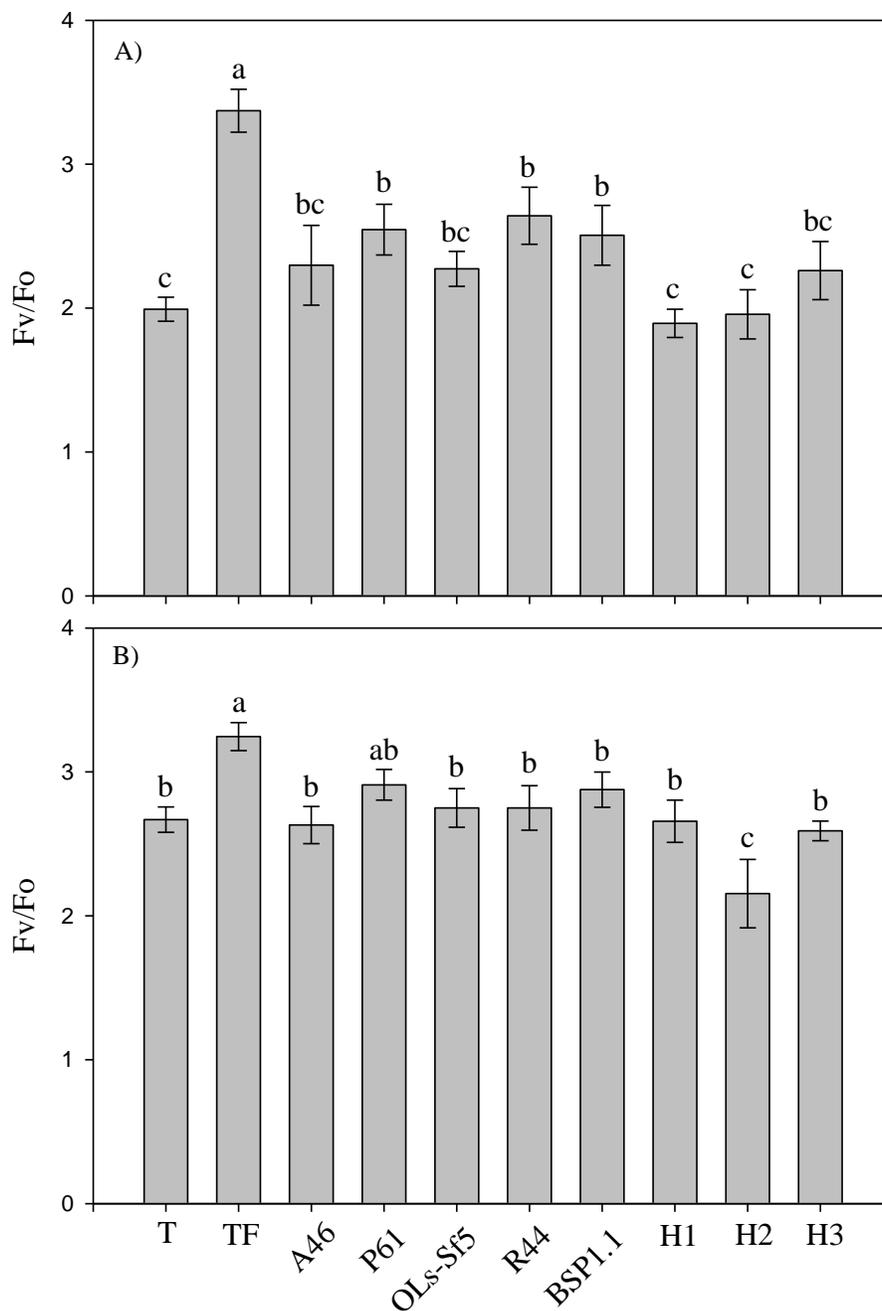
**Figura 4.4.** Número de hojas (A), Área foliar (B), peso seco de hojas (C), área foliar específica (D) de plantas de chile (*Capsicum annuum*) jalapeño, por efecto de la inoculación de cepas bacterianas promotoras del crecimiento vegetal, y consorcios de hongos micorrízicos arbusculares, después de 70 días.  $n = 15$ . Medias  $\pm$  Error estándar. Letras idénticas sobre las barras en su correspondiente gráfica, son estadísticamente iguales (LSD,  $\alpha = 0.05$ ). Abreviaturas: A46= *Pseudomonas tolaasii*, P61 = *Pseudomonas tolaasii*, OLS-Sf5 = *Pseudomonas* sp., R44= *Bacillus pumilus*, BSP1.1 = *Paenibacillus* sp., H1 = *Funneliformis aff. geosporum* y *Claroideoglomus* spp., H2 = *Rhizophagus intraradices*, H3 = *Rhizophagus fasciculatus*, *Glomus* sp., y *Archaeospora* sp., T= Testigo absoluto, y TF= Testigo fertilizado.

En la Figura 4.3D, se observa que las plantas de pimienta Bell Pepper inoculadas con la bacteria P61 mostraron significativamente ( $P \leq 0.05$ ) mayor área foliar específica en comparación con los demás tratamientos, mientras que para el chile Jalapeño el testigo

fertilizado mostró significativamente ( $P \leq 0.05$ ) área foliar específica que los demás tratamientos (Figura 4.4D). En cuanto a la inoculación con HMA, no se observó diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) mayor en área foliar específica en comparación con el testigo y al testigo fertilizado en ambos cultivares de Chile (Figura 4.3D y 4.4D).

La aplicación del fertilizante mineral resultó en significativamente mayor eficiencia fotosintética del PSII ( $F_v/F_o$ ) con respecto al resto de los tratamientos (Figura 4.5). En el caso del pimiento Bell Pepper, no se observaron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre las BPCV, aunque los valores de  $F_v/F_o$  fueron en su mayoría, significativamente mayores a los obtenidos con la inoculación de los HMA (Figura 4.5A). En Chile Jalapeño, los valores de  $F_v/F_o$  no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos inoculados con las bacterias y el testigo; en contraste, el menor valor se obtuvo en el tratamiento inoculado con *R. intraradices* (H2), el cual fue estadísticamente ( $P \leq 0.05$ ) menor que el testigo (Figura 4.5B).

La colonización micorrízica total mostró diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre los tratamientos inoculados con los consorcios micorrízicos, en ambos cultivares de Chile. El consorcio H3 fue más infectivo en ambos cultivares, con 47.2% de colonización en Bell Pepper y 42.3% en Chile Jalapeño; el inóculo H2 mostró una colonización de 32.8% en Chile Jalapeño. El resto de los inóculos mostró baja infectividad (menor al 5%), en ambos cultivares. No se observó presencia de arbuscúlos en ningún cultivar. La presencia de vesículas en el cultivar Bell Pepper, solo se observó con H3 (19.3%) y en Jalapeño los tratamientos H2, H3 con 17.4 y 27.8%, respectivamente (Cuadro 4.1).



**Figura 4.5.** Valores de Fv/Fo en plantas de chile (*Capsicum annuum*) pimiento Bell Pepper (A) y Jalapeño (B), por efecto de la inoculación de cepas bacterianas promotoras del crecimiento vegetal, y consorcios de hongos micorrízicos arbusculares, después de 70 días. n = 8. Medias ± Error estándar. Letras idénticas sobre las barras en su correspondiente gráfica, son estadísticamente iguales (LSD,  $\alpha = 0.05$ ). Abreviaturas: A46= *Pseudomonas tolaasii*, P61 = *Pseudomomas tolaasii*, OLS-Sf5 = *Pseudomomas* sp., R44= *Bacillus pumilus*, BSP1.1 = *Paenibacillus* sp., H1 = *Funneliformis* aff. *geosporum* y *Claroideogloumus* spp., H2 = *Rhizophagus intraradices.*, H3 = *Rhizophagus fasciculatus*, *Glomus* sp., y *Archaeospora* sp., T= Testigo absoluto, y TF= Testigo fertilizado.

**Cuadro 4.1.** Colonización de los HMA en plantas de chile pimiento Bell Pepper y Jalapeño (*Capsicum annuum*).

Cultivar	HMA*	Colonización total (%)	Arbúsculos (%)	Vesículas (%)
Bell Pepper	T	0 c	0	0
	H1	3.5 b	0	0
	H2	4.5 b	0	0
	H3	47.2 a	0	19.3
Jalapeño	T	0 c	0	0
	H1	4.6 c	0	0
	H2	32.8 b	0	17.4
	H3	42.3 a	0	27.8

\*No se encontró colonización micorrízica en los tratamientos inoculados con bacterias, por lo que éstos no se muestran en el cuadro. H1 = *Funneliformis aff. geosporum* y *Claroideoglossum* spp., H2 = *Rhizophagus intraradices*., H3 = *Rhizophagus fasciculatus*, *Glomus* sp., y *Archaeospora* sp., y T= Testigo absoluto. Medias con la misma letra en columnas para cada cultivar son estadísticamente iguales (LSD,  $\alpha = 0.05$ ).

#### 4.4. DISCUSIÓN

Las cepas bacterianas que mostraron mayor efecto en altura de planta, área foliar, diámetro de tallo y volumen radical, con respecto al testigo sin fertilizar en ambos cultivares de chile fueron P61 y R44; mientras que los HMA más efectivos en altura de planta, diámetro de tallo y peso seco de la planta, correspondieron a las cepas H1 y H3. Estos resultados reflejan la importancia que tienen los microorganismos en el desarrollo de plántulas de interés hortícola, así como el hecho de poder reducir insumos agrícolas, especialmente fertilizantes químicos (Hartmann *et al.*, 2015). Las prácticas de siembra y trasplante son comunes en los sistemas agrícolas, de ahí la importancia de producir plántulas sanas para un alto rendimiento después del trasplante. Cabe hacer la

consideración que, el uso de mano de obra en la producción de plántulas en almácigos o durante el trasplante, es obligatoria, por lo que se puede aprovechar para inocular los microorganismos benéficos, ya que, en campo resultaría más costoso, y los microorganismos podrían tener mayor dificultad para colonizar la rizosfera de la planta (Russo y Perkins-Veazie, 2010; Anith *et al.*, 2015).

Los beneficios de las cepas bacterianas utilizadas en este experimento, en la promoción del crecimiento vegetal han sido documentados en diferentes cultivos como nabo (*Brassica napus*), Bell Pepper, pepino (*Cucumis sativus*) y tomate (*Solanum lycopersicum*). Los mecanismos que tienen estas bacterias para promover el crecimiento se relacionan con la producción de sideróforos, la solubilización de fósforo, y síntesis de indoles (Egamberdiyeva, 2007; Dell'Amico *et al.*, 2008; Herman *et al.*, 2008; Viruel *et al.*, 2011; Huang *et al.*, 2012; Padmavathi *et al.*, 2015).

En el caso de los HMA, sus efectos benéficos se han reportado en plantas de Bell Pepper y avena (*Avena sativa*) destacando la producción de biomasa aérea y radical, efecto en algunos parámetros fisiológicos, y la acumulación de fósforo (Xun *et al.*, 2014; Padmavathi *et al.*, 2015). Resultados que se relacionan con los reportados en el presente estudio, para ambas variedades de Chile. Los HMA promueven el crecimiento vegetal debido a una mayor absorción de nutrimentos como el fósforo y el nitrógeno, entre otros (Oliveira *et al.*, 2010; Nandjui *et al.*, 2013; Dąbrowska *et al.*, 2014; Adhya *et al.*, 2015; Padmavathi *et al.*, 2015).

Se obtuvieron diferencias significativas para los cultivares de *C. annuum* al ser inoculados con las cepas P61 (*Pseudomonas tolaasii*) y R44 (*Bacillus pumilus*), cuyas plantas mostraron mayor respuesta en la mayoría de las variables evaluadas. Kang *et al.* (2007) reportaron resultados similares al inocular dos cepas endófitas (*Pseudomonas* sp. y

*Pantoea* sp.) en plántulas de pimiento, las cuales promovieron el crecimiento en 16.6 y 17.2%, y aumentaron el peso fresco total en 15.3 a 27.7%. No existen reportes en estas especies de chile, en cuanto a la inoculación con *Pseudomonas tolaasii* y *Bacillus pumilus*; no obstante, el efecto favorable de la inoculación de BPCV en el crecimiento y demás características relacionadas con la calidad de plántulas, ha sido estudiado por Díaz *et al.* (2001) y Brutti *et al.* (2015), en tomate y lechuga.

Las respuestas de crecimiento analizadas (altura, diámetro de tallo, área foliar, y peso seco foliar y total), mostraron mayor efecto positivo de la inoculación con HMA en los dos cultivares de *C. annuum*, en comparación con las BPCV. Este efecto se atribuye fundamentalmente a la actividad fisiológica de los HMA, la cual favorece el crecimiento, desarrollo y vigor de las plantas, como ha sido discutido por Smith y Smith, (2012).

El volumen radical mostró mayor respuesta por la inoculación de las bacterias en comparación con los HMA. Este efecto contratante puede deberse a que en las plantas micorrizadas las hifas del hongo exploran de forma más efectiva el suelo, ayudan absorber y asimilar nutrimentos en las plantas, es decir, actúan como una extensión de las raíces, por lo que la planta no requiere de mayor desarrollo radical para absorber y asimilar nutrimentos (Garg y Chandel, 2010). Por su parte, Aguirre-Medina *et al.* (2002) encontraron que la inoculación con HMA incrementó el desarrollo de la parte aérea, pero resultó en menor peso seco de la raíz, en plántulas de frijol. Por otro lado, Soti *et al.* (2015) observaron una respuesta similar en *Lygodium microphyllum*, al obtener una correlación negativa entre la micorrización y el crecimiento de la raíz, sin afectar el desarrollo de la parte aérea de la planta. Lo anterior indica que la respuesta en el crecimiento de la raíz de una planta micotrófica podría estar mediada por los HMA.

La medición de la eficiencia fotoquímica del fotosistema II (PSII) medida a través de la fluorescencia de la clorofila es una técnica efectiva, no invasiva para detectar daños en el PSII (Baker, 2008), y el parámetro  $F_v/F_o$  indica el potencial de la capacidad fotosintética del PSII (Zhang *et al.*, 2014). Las plantas testigo con fertilización, en ambos cultivares de Chile, mostraron mayores valores de  $F_v/F_o$  con respecto a los tratamientos inoculados con BPCV o con HMA, esto se debe a que la plántula al tener todos los nutrimentos en forma proporcional no sufre de estrés y se refleja en lecturas altas de  $F_v/F_o$  (Moreno *et al.*, 2008). Russo y Perkins-Veazie (2010) encontraron que la clorofila en plántulas de Bell Pepper no mostró respuestas por la inoculación con BPCV y con HMA, solos o en combinación. En cambio, el testigo sin fertilizar mostró los valores de  $F_v/F_o$  más bajos, a lo que se le atribuye una limitada disponibilidad de nutrimentos en el cepellón de la plántula, lo que puede ocasionar un estrés por deficiencia de elementos nutritivos, ya que la eficiencia fotosintética está relacionada con una disminución en el contenido de nitrógeno de la hoja, en el contenido de clorofila y en el área foliar (Nakano *et al.*, 1997). Por otra parte, las plantas con HMA mostraron valores de  $F_v/F_o$  similares al testigo, pero menores a los tratamientos inoculados con BPCV y al testigo con fertilización. Lo anterior puede relacionarse con un mayor consumo de fotoasimilados por el hongo simbionte, ocasionando un estrés a la planta que se refleja en valores bajos de  $F_v/F_o$  (Smith y Smith, 2012); no obstante, algunos estudios demuestran que los HMA aceleran la actividad fotosintética en la planta hospedera (Goicoechea *et al.*, 2014; Elhindi *et al.*, 2016). En este caso, los HMA al promover el crecimiento vegetal pudieron haber agotado los nutrientes en el sustrato, provocando con ello un estrés nutrimental en las plántulas al final del experimento, momento en el cual se tuvieron lecturas bajas de  $F_v/F_o$ , lo que indica un estrés vegetal (Zhang *et al.*, 2014), situación que no ocurrió en las plantas fertilizadas cuyos valores de

Fv/Fo fueron los más altos. La promoción del crecimiento para ambos cultivares de Chile, por parte de los HMA o de las BPCV, se relaciona con un mayor crecimiento en la parte aérea, que puede ser derivado de diversos mecanismos como la fijación de nitrógeno y la solubilización de fosfato, o la producción de diferentes fitohormonas (ácido indol-acético, ácido giberélico y citoquininas) que favorecen la expansión foliar que propicia el aprovechamiento de recursos y el incremento en las variables evaluadas (Swain *et al.*, 2007; Kloepper *et al.*, 2007). El incremento de la eficiencia fotoquímica del fotosistema II (PSII), representado con el parámetro Fv/Fo, está relacionado con la promoción del crecimiento en ambos cultivares de Chile, principalmente por la inoculación de las cepas P61, R44 y BSP1.1 con respecto al testigo absoluto, indicando un beneficio en el PSII de las plantas (Zubek *et al.*, 2009). Por lo que el uso de la fluorescencia de la clorofila se puede utilizar para dar un diagnóstico precoz de la vitalidad o vigor de la planta antes de que las evidencias morfológicas aparezcan (Strasser *et al.*, 2004).

La colonización micorrízica fue baja con los consorcios, H1 y H2 en Bell Pepper, y H1 en Jalapeño, sin embargo, la respuesta de las plántulas a los HMA fue favorable en altura de planta, diámetro de tallo, peso seco total, número de hojas, y área foliar, lo cual indica que la extensión de la colonización micorrízica, no siempre es un indicador claro del beneficio potencial que puede representar para su planta hospedante (Alarcón y Ferrera-Cerrato, 1999; Hess *et al.*, 2005)

Estos microorganismos pueden ser utilizados para reforzar el desarrollo de plántulas de Chile Jalapeño y Bell Pepper, para que lleguen al campo con más facultades adaptativas contra diferentes tipos de estrés que pudieran presentar después del trasplante.

#### 4.5. CONCLUSIONES

Los hongos micorrízicos arbusculares (H1 y H3) y las BPCV (P61 y R44) incrementaron el crecimiento de las plántulas de chile jalapeño y Bell Pepper. A pesar de presentar baja colonización micorrízica, los HMA produjeron efectos benéficos en altura de planta, diámetro de tallo y peso seco de la planta. En el caso de las BPCV, los principales beneficios se relacionaron con altura de planta, área foliar, diámetro de tallo y volumen radical, con respecto a testigo sin fertilización. Además las BPCV produjeron un aumento en la  $F_v/F_o$ , en comparación con el testigo sin fertilizar, lo que se relaciona con el aumento de la capacidad fotosintética del PSII. No obstante, la utilización solo de BPCV y HMA no es suficiente para obtener los resultados similares al obtenido con la fertilización química. Lo anterior sugiere futuros experimentos para la búsqueda de dosis óptimas de fertilización química compatibles con la actividad fisiológica de las BPCV y HMA en las plantas.

Estos microorganismos pueden ser utilizados para reforzar el desarrollo de plántulas de chile Jalapeño y Bell Pepper, para que lleguen al campo con más facultades adaptativas contra diferentes tipos de estrés que pudieran presentar después del trasplante. Aunque en este trabajo de investigación, no se estudió la interacción entre los dos diferentes tipos de microorganismos, no se descarta la posibilidad de que exista un efecto sinérgico entre estos. Al respecto, existen estudios en que demuestran un efecto benéfico cuando se mezclan BPCV y HMA en la promoción del crecimiento vegetal (Mohamed *et al.*, 2014; Armada *et al.*, 2016).

## CAPÍTULO V.

### **CRECIMIENTO DE PLÁNTULAS DE PIMIENTO BELL PEPPER (*Capsicum annuum*) INOCULADAS CON HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES Y RIZOBACTERIAS PROMOTORAS DE CRECIMIENTO VEGETAL**

Esta investigación estudió el sinergismo entre bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV) y hongos micorrízicos arbusculares (HMA) con base en su efecto en plántulas de chile Bell Pepper “California Wonder”. Se utilizaron las cepas bacterianas P61 (*Pseudomonas tolaasii*) y R44 (*Bacillus pumilus*), así como la mezcla de ambas, un testigo sin inocular, y su interacción con un consorcio micorrízico, integrado por *Funneliformis aff. geosporum* y *Claroideoglossum* sp. Las plántulas fueron inoculadas con los HMA al momento de la siembra, y las BPCV fueron inoculadas 15 días después de la emergencia. Las plántulas fueron crecidas en condiciones de invernadero, con aplicación de solución Steiner al 10%, cada tercer día, durante 80 días. El testigo sin inocular, mostró menor respuesta en la mayoría de las variables de crecimiento en comparación con las plántulas inoculadas con BPCV o con HMA (solos o en combinación). La cepa P61 sin HMA y la interacción R44+HMA incrementaron el crecimiento de las plantas. El consorcio micorrízico mejoró la capacidad fotosintética del PSII con respecto a plantas testigo o con aquellas inoculadas con R44, o con la mezcla de ambas bacterias. Estos microorganismos pueden ser utilizados para reforzar el desarrollo de plantas de chile Bell Pepper, al inducir mayor vigor.

**Palabras clave:** altura, área foliar, peso seco total, fotosíntesis, *Pseudomonas*

## CHAPTER V.

## **GROWTH OF PEPPER SEEDLINGS (*Capsicum annuum*) INOCULATED WITH ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI AND PLANT GROWTH PROMOTING RHIZOBACTERIA**

This study investigated the synergism between plant growth promoting bacteria (PGPR) and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) based on their effect on Bell Pepper "California Wonder" seedlings. Bacterial strains P61 (*Pseudomonas tolaasii*) and R44 (*Bacillus pumilus*) were inoculated, as well as the mixture of both bacteria, the interaction with a mycorrhizal consortium, integrated by *Funneliformis* aff. *Geosporum* and *Claroideoglossum* sp., and an uninoculated control. Seedlings were inoculated with AMF at sowing, and PGPR were inoculated after 15 days of seedling emergence. Seedlings were grown in greenhouse conditions, with the application of 10% Steiner solution, every third day, during 80 days. Uninoculated control showed lower responses in most of growth parameters when compared to seedlings inoculated with PGPR or AMF (alone or in combination). Strain P61 without AMF and the interaction with R44+AMF increased the plant growth. The mycorrhizal consortium improved the photosynthetic capacity of PSII with respect to control plants or to those inoculated with R44, or to the mixture of both bacteria. These microorganisms can be used to reinforce the growth and vigor of Bell Pepper plants..

**Keywords:** height, leaf area, total dry weight, photosynthesis, *Pseudomonas*

### **5.1. INTRODUCCIÓN**

La superficie sembrada de chile Bell pepper en México fue de 2614 has con una producción anual de 85,930.83 ton en el 2014, de las cuales 75,238.83 ton fueron producidas en el estado de Sinaloa, 9824 en el estado de Sonora, y el resto por los estados de Baja California y Baja California sur (SIAP, 2016). Tal producción generada a campo abierto o en invernadero, se destina a la exportación (Reséndiz-Melgar *et al.*, 2010), principalmente a los Estados Unidos de Norteamérica y Canadá (Castellanos y Borbón, 2009).

Las aplicaciones intensivas de fertilizantes minerales a los cultivos hortícolas han contribuido sustancialmente a la contaminación de los ecosistemas (atmósfera, el suelo y agua) (Leogrande *et al.*, 2013). Por ejemplo, el nitrógeno es el nutriente más limitante en la producción de los cultivos hortícolas, por lo que los productores aplican grandes cantidades de fertilizantes nitrogenados para satisfacer las necesidades de las plantas. Sin embargo, sólo el 50% de los fertilizantes nitrogenados se aprovecha generalmente por la mayoría de los cultivos y el resto ocasiona problemas ambientales, como la degradación del suelo, la eutrofización, la contaminación de las aguas subterráneas, y la emisión de amoníaco y gases de efecto invernadero (Smil, 1999; Spiertz, 2010). En consecuencia, muchos países en desarrollo tienen el reto de implementar nuevos modelos agrícolas, más sustentables con el ambiente y los recursos naturales, y que permitan la producción de alimentos para satisfacer a un número creciente de habitantes del planeta (Thilagar *et al.*, 2016).

El uso de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV) y hongos micorrízicos arbusculares (HMA), puede ser una alternativa al problema de la sobrefertilización y una vía para mantener una agricultura sostenible (Wu *et al.*, 2013). Por ejemplo, la actividad microbiana del suelo determina la disponibilidad de nutrientes, y por

consiguiente, tiene influencia significativa en la salud y productividad vegetal (Jeffries *et al.*, 2003).

Dentro de los mecanismos por los cuales, las BPCV mejoran el crecimiento de las plantas, se encuentran la producción de sustancias reguladoras del crecimiento vegetal (fitohormonas), la supresión de fitopatógenos a través de la antibiosis, la producción de sideróforos, fijación de nitrógeno atmosférico, la mineralización del fósforo orgánico, y el aumento de la absorción de minerales (Raines *et al.*, 2015; Wei *et al.*, 2016; Lin *et al.*, 2014; Ahemad y Kibret, 2014).

Los HMA son hongos del suelo que forman simbiosis mutualista con más del 90% de las plantas terrestres (Smith y Read, 2008), y pertenecen al phylum *Glomeromycota* (Schüßler *et al.*, 2001). Este tipo de simbiosis facilita la absorción y translocación de nutrientes a las plantas micorrizadas (Guo *et al.*, 2010), ya que las hifas de los HMA forman una red subterránea con una mayor capacidad de exploración del suelo comparado con las raíces de las plantas (van der Heijden y Horton, 2009). Estas redes de hifas están conectadas directamente con las raíces, el suelo y la microflora asociada. Tal extensa red de micelio libera nutrientes de las partículas del suelo, por lo que facilita la absorción de agua y nutrientes por las plantas (Smith *et al.*, 2015). Además, los HMA y las BPCV pueden interactuar sinérgicamente para estimular el crecimiento vegetal a través de una serie de mecanismos que incluyen la adquisición de nutrientes y la inhibición de patógenos fúngicos de plantas. Estas interacciones son de importancia crucial en los sistemas agrícolas de bajos insumos o sistemas agrícolas sostenibles, los cuales dependen de los procesos biológicos, en lugar de agroquímicos, para mantener la fertilidad del suelo y la salud de las plantas (Artursson *et al.*, 2006).

Algunos estudios muestran el beneficio de BPCV o de HMA en plántulas de Chile; por ejemplo, el crecimiento de plántulas de pimiento rojo fue promovido por *Bacillus cereus* MJ-1, *B. macroides* CJ-29, y *B. pumilus* CJ-69 (Joo *et al.*, 2004). La inoculación dual de *Acinetobacter junii* y *Rhizophagus intraradices* y *R. fasciculatus* aumentó la biomasa y la acumulación de fosfatos en plantas de pimiento (Padmavathi *et al.*, 2015). Además, la inoculación de *Glomus intraradices* y *Gigaspora margarita* en ocho genotipos de pimiento en condiciones de cámara de crecimiento, resultó en mayor peso seco en comparación con las plantas no inoculadas (Sensoy *et al.*, 2007).

A pesar de los beneficios mencionados, se tiene limitada información sobre el beneficio de bacterias como *Pseudomonas tolaasii* y *Bacillus pumilus*, en combinación con consorcios micorrízicos arbusculares en la promoción del crecimiento de plántulas de Chile Bell Pepper. Por lo anterior, la presente investigación se enfocó al estudio del sinergismo entre BPCV y HMA con base en su efecto en el crecimiento y en la eficiencia del fotosistema II de plántulas de Chile Bell Pepper “California Wonder” en condiciones de invernadero.

## **5.2. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **5.2.1. Material vegetal y condiciones experimentales**

La investigación se realizó bajo condiciones de invernadero (19° 27' latitud norte, 98° 88' longitud oeste y 2240 msnm). Se utilizaron semillas de Chile Bell Pepper variedad pimiento “California Wonder” (Distribuidora Rancho Los Molinos S.A. de C.V.), con germinación mayor del 89%.

### **5.2.2. Material microbiológico**

Se utilizaron las cepas bacterianas P61 (*Pseudomonas tolaasii*) y R44 (*Bacillus pumilus*), así como la mezcla de estas cepas. Además, se utilizó un consorcio de hongos micorrízicos arbusculares (HMA), aislado de la rizósfera de Chile en el estado de Puebla, y conformado por *Funneliformis aff. geosporum* y *Claroideoglossum* sp. El inóculo micorrízico consistió de 2296 esporas por 100 g de suelo seco.

### **5.2.3. Preparación del inóculo bacteriano**

Cada una de las cepas bacterianas fue crecida en caldo nutritivo a 28 °C por 72 h, y posteriormente centrifugadas a 7000 rpm por 15 minutos para separar el concentrado microbiano del medio de cultivo. Este concentrado se resuspendió en agua destilada estéril y centrifugado en dos ocasiones con el propósito de eliminar los nutrientes residuales del inóculo. La concentración de células bacterianas en los inóculos P61 y R44, fue de  $1 \times 10^8$  mL<sup>-1</sup>. Algunas características reportadas para el género y especie de las dos BPCV utilizadas en este experimento, corresponden a la producción de auxinas y solubilización de fosfato para *Pseudomonas tolaasii* (Dell'Amico *et al.*, 2008), y promoción del crecimiento, solubilización de fosfato y producción de auxinas para *Bacillus pumilus* (Kumar *et al.*, 2011).

### **5.2.4. Siembra de la semilla e inoculación de los microorganismos**

La siembra de las semillas se realizó en charolas de unicel de 200 cavidades, de las cuales se cortaron secciones de 20 cavidades cada una (una sección por tratamiento). Se sembró una semilla por cavidad en un sustrato conformado por arena, turba y perlita (1:1:1 v/v), previamente esterilizado (121 °C durante 3 h, por dos días consecutivos).

La inoculación del consorcio micorrízico, se realizó al momento de la siembra mezclando el inóculo con el sustrato a una proporción de 1:4 v/v. La inoculación de las cepas bacterianas se llevó a cabo 15 días después de la germinación de semillas, aplicando 2 mL de inóculo directamente a la zona de la raíz. Todos los tratamientos fueron regados cada tercer día con la solución Steiner al 10 % (Steiner, 1961), ajustada a una conductividad eléctrica de  $0.2 \text{ dS m}^{-1}$ , con ( $\text{mg L}^{-1}$ ): 106.2 de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , 31.2 de  $\text{KNO}_3$ , 27.0 de  $\text{K}_2\text{SO}_4$ , 49.2  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , y 13.6  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , ajustando el pH a 6.5.

Las plantas permanecieron 80 días bajo condiciones de invernadero, la humedad relativa promedio máxima fue de  $97.32 \% \pm 2.83$  y mínima de  $21.27 \% \pm 14.08$ , y la temperatura promedio máxima de  $37.70 \text{ }^\circ\text{C} \pm 7.28$  y mínima de  $9.67 \text{ }^\circ\text{C} \pm 4.11$ .

#### **5.2.5. Variables evaluadas**

Después de 80 días, las plantas fueron evaluadas y cosechadas, y se les midió altura de planta, diámetro de tallo, volumen radical, número de hojas, área foliar, peso seco aéreo y total, eficiencia fotoquímica del fotosistema II ( $F_v/F_o$ = relación entre la fluorescencia variable y fluorescencia inicial), contenido relativo de clorofila, y colonización micorrízica. El volumen radical se midió utilizando la técnica del desplazamiento de agua (Böhm, 1979). El área foliar fue determinada con un medidor de área foliar marca LICOR (LI 3000, Inc. Lincoln, NE, EUA). La biomasa seca se obtuvo al secar ( $70 \text{ }^\circ\text{C}$  por 72 h) por separado hojas, tallos y raíces, y pesarlos en balanza analítica (Sartorius, Modelo Analytic AC 210S, Illinois, USA). La eficiencia fotoquímica del fotosistema II ( $F_v/F_o$ ) se midió con un fluorómetro OS-30p+ (Opti-Sciences) considerando lecturas en la hoja más recientemente madura. El contenido relativo de clorofila (Unidades SPAD) en hojas se midió con un equipo SPAD-502 (Minolta, Japan), tomando lecturas en la hoja más recientemente

madura. La colonización micorrízica se evaluó con la técnica de clareo y tinción (Phillips y Hayman, 1970) y el porcentaje de colonización se determinó mediante la estimación visual del porcentaje de raíz ocupado por HMA, tomando en cuenta la presencia o ausencia de estructuras fúngicas en fragmentos de raíz montados en portaobjetos (Biermann y Linderman, 1983).

### **5.2.6. Tratamientos y diseño experimental**

El experimento tuvo un arreglo factorial 4 x 2, considerando cuatro niveles para el factor inoculación bacteriana (P61, R44, la mezcla de éstas, y un control sin inocular), y dos niveles para el factor micorrización (con y sin el consorcio micorrízico), obteniendo ocho tratamientos con 12 repeticiones distribuidas en un diseño completamente al azar. Los datos fueron analizados mediante el programa SAS para Windows (SAS Institute Inc. 2002), realizando un análisis de varianza y prueba de comparación de medias (LSD,  $\alpha=0.05$ ).

## **5.3. RESULTADOS**

El factor inoculación bacteriana mostró diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) en la altura, siendo R44 y P61 superiores significativamente ( $P \leq 0.05$ ) en comparación con Mezcla y el control. Los tratamientos control+HMA, P61, R44, R44+HMA, Mezcla y Mezcla+HMA, incrementaron significativamente ( $P \leq 0.05$ ) la altura de plantas en comparación con el control (Figura 5.1A); sin embargo, P61 y R44+HMA mostraron mayor altura en comparación con el resto de los tratamientos.

El factor inoculación bacteriana mostró diferencias significativas en número de hojas ( $P \leq 0.05$ ), donde P61 fue estadísticamente mayor que la cepa R44 y el control. El factor micorrización también mostró diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ), siendo el nivel sin

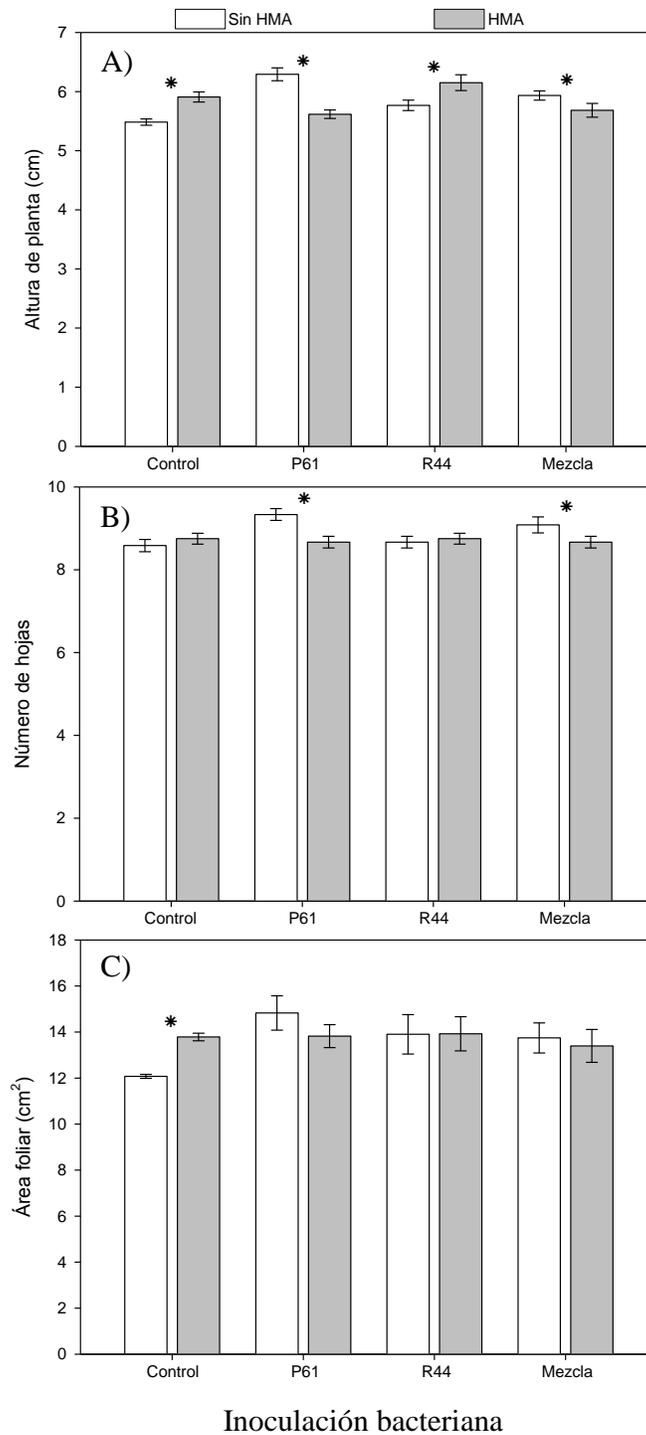
micorrización mayor estadísticamente ( $P \leq 0.05$ ) que el nivel con micorrización. Los tratamientos P61 y Mezcla fueron estadísticamente ( $P \leq 0.05$ ) mayores que el control en el número de hojas (Figura 5.1B).

Se observaron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) en el factor inoculación bacteriana en el área foliar, donde P61 fue estadísticamente mayor ( $P \leq 0.05$ ) que el control. Los tratamientos control+HMA, P61, P61+HMA, R44 y R44+HMA mostraron significativamente mayor ( $P \leq 0.05$ ) área foliar que el control (Figura 5.1C).

Los tratamientos HMA, P61, R44+HMA, Mezcla y Mezcla+HMA mostraron significativamente ( $P \leq 0.05$ ) mayor peso seco total que el control. No se observó interacción significativa entre la inoculación de bacterias con HMA para peso seco total (Figura 5.2A).

El factor con micorrización mostró significativamente ( $P \leq 0.05$ ) mayor peso seco aéreo respecto al factor sin micorrización. Los tratamientos HMA, R44+HMA y Mezcla+HMA fueron estadísticamente ( $P \leq 0.05$ ) mayor que el control (Figura 5.2B). Solamente R44 mostró una interacción significativa ( $P \leq 0.05$ ) con los HMA (Figura 5.2B).

En el peso seco de raíz, P61 y Mezcla fueron significativamente mayor en comparación con el control, y no se mostró efecto significativo por los HMA, ni con su interacción con bacterias respecto al control (Figura 5.2C).

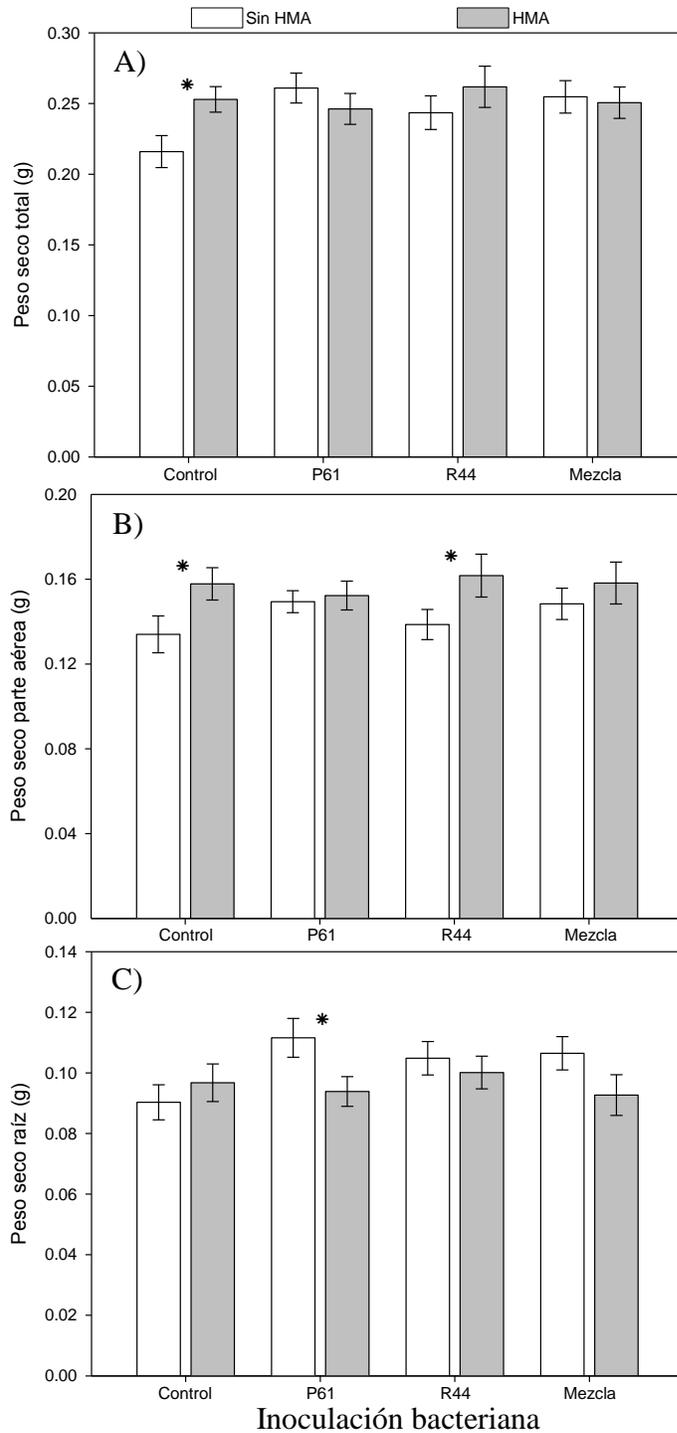


**Figura 5.1.** Altura (A), número de hojas (B), área foliar (C) de plantas de chile (*Capsicum annuum*) pimiento Bell Pepper, por efecto de la inoculación de cepas bacterianas promotoras del crecimiento vegetal, y consorcio de hongos micorrízicos arbusculares (HMA), después de 80 días.  $n = 12$ . Medias  $\pm$  Error estándar. Presencia de asterisco indica diferencia estadística entre sus correspondientes barras (LSD,  $\alpha = 0.05$ ). Abreviaturas: P61= *Pseudomonas tolaasii*, R44= *Bacillus pumilus*, Mezcla= P61+R44.

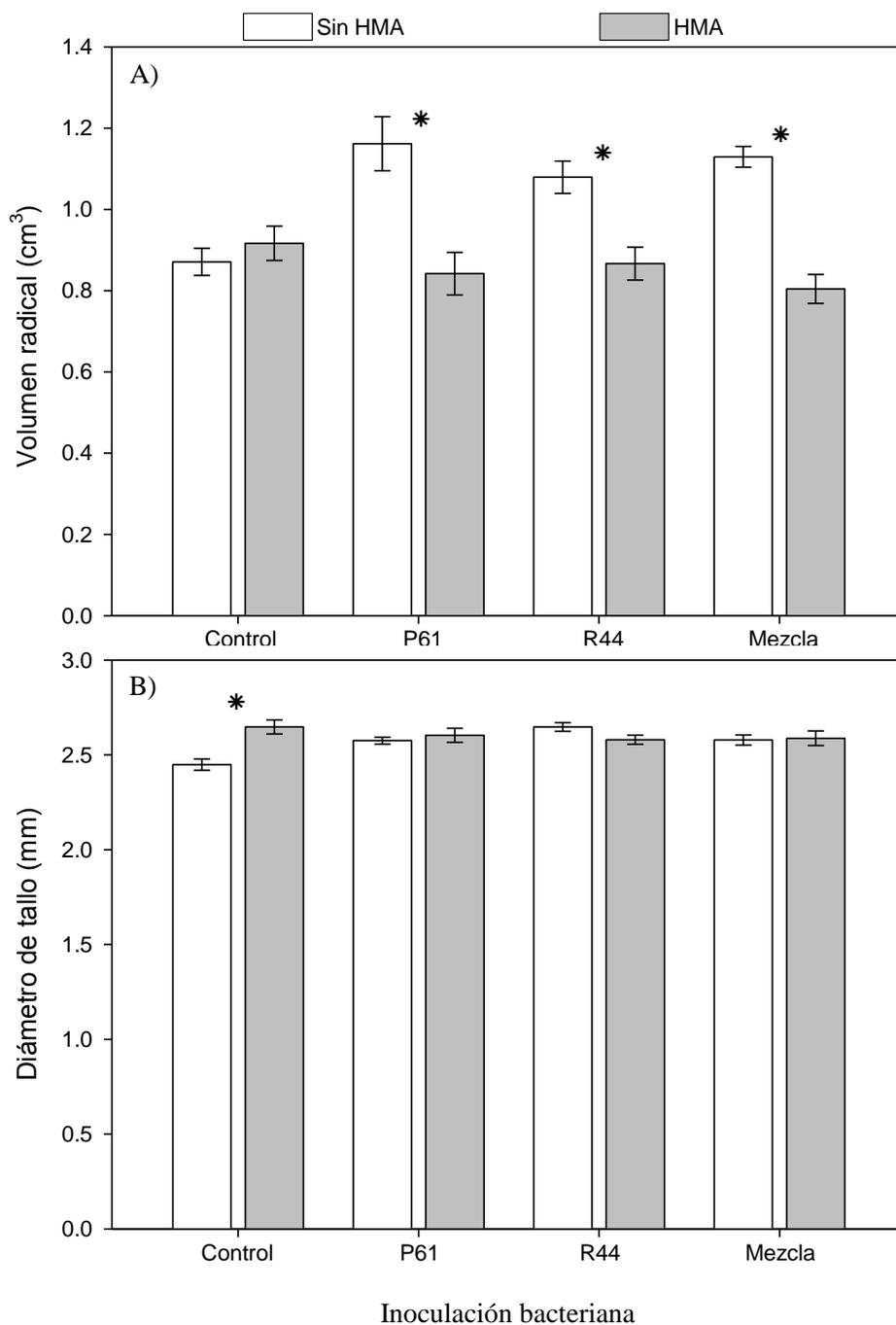
El factor inoculación bacteriana incrementó significativamente el volumen radical en plantas de chile, siendo P61, R44 y Mezcla mayores estadísticamente ( $P \leq 0.05$ ) que el control. Por otro lado, el factor con micorrización fue estadísticamente ( $P \leq 0.05$ ) menor que sin micorrización. Los tratamientos P61, R44 y Mezcla mostraron estadísticamente ( $P \leq 0.05$ ) mayor volumen radical, en comparación con el control, sin embargo, Mezcla+HMA fueron estadísticamente menores ( $P \leq 0.05$ ) que el control (Figura 5.3A).

El tratamiento con R44 del factor inoculación bacteriana mostró estadísticamente ( $P \leq 0.05$ ) mayor diámetro de tallo en comparación con el control. Así mismo, el nivel con micorrización incrementó significativamente ( $P \leq 0.05$ ) el diámetro de tallo respecto al nivel sin micorrización. Todos los tratamientos fueron significativamente ( $P \leq 0.05$ ) mayores al control (Figura 5.3B).

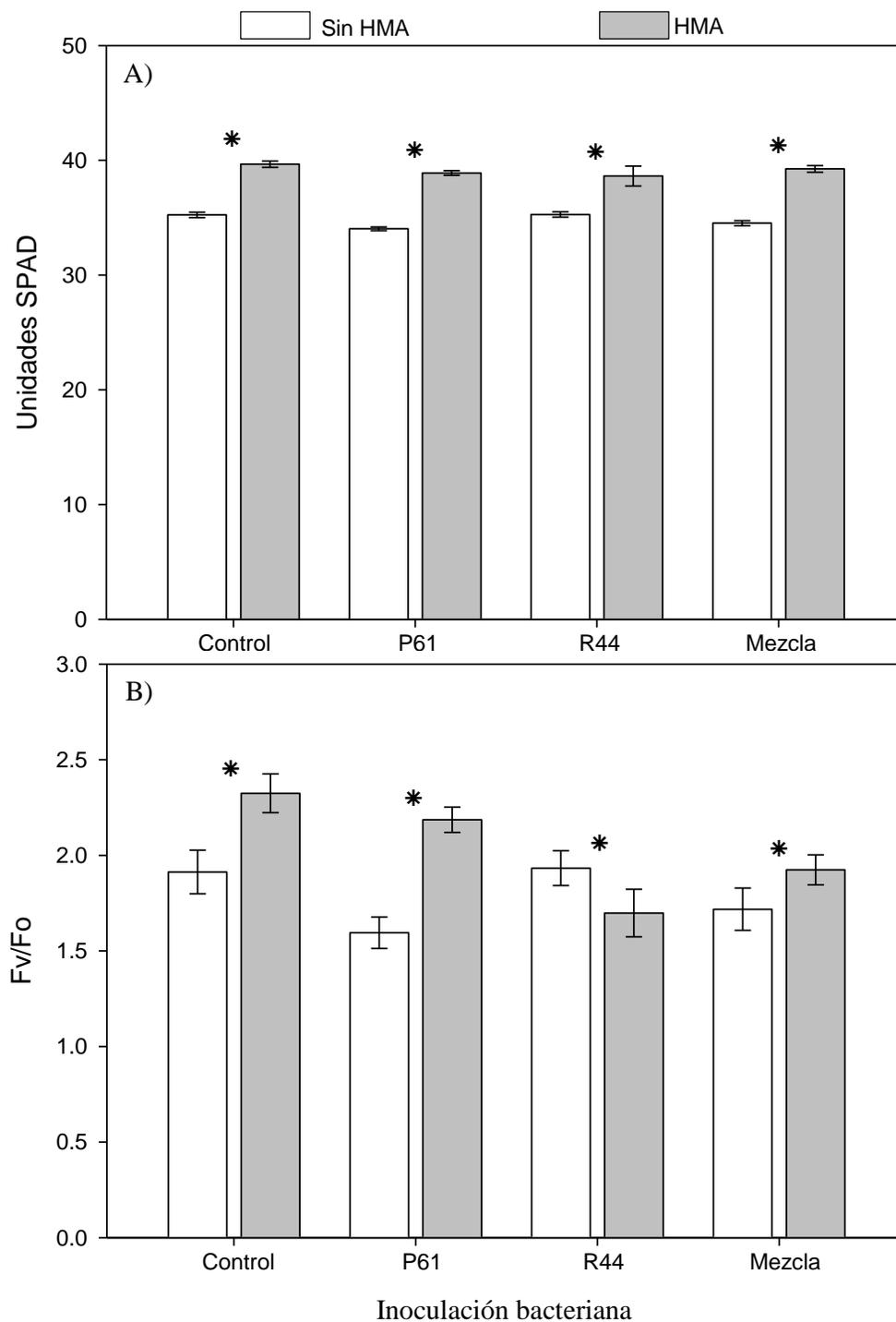
Los niveles R44, Mezcla y P61 del factor inoculación fueron estadísticamente ( $P \leq 0.05$ ) menores en unidades SPAD con respecto al control. Por el contrario, los tratamientos con micorrización mostraron mayores unidades SPAD en comparación con aquellos sin micorrización. El tratamiento control+HMA mostró significativamente ( $P \leq 0.05$ ) mayor valor de las unidades SPAD con respecto al resto de los tratamientos (Figura 5.4A).



**Figura 5.2.** Peso seco total (A), peso seco aéreo (B), peso seco raíz (C) de plantas de chile (*Capsicum annuum*) pimiento Bell Pepper, por efecto de la inoculación de cepas bacterianas promotoras del crecimiento vegetal, y consorcio de hongos micorrízicos arbusculares (HMA), después de 80 días. n = 12. Medias  $\pm$  Error estándar. Presencia de asterisco indica diferencia estadística entre sus correspondientes barras (LSD,  $\alpha = 0.05$ ). Abreviaturas: P61= *Pseudomonas tolaasii*, R44= *Bacillus pumilus*, Mezcla= P61+R44.



**Figura 5.3.** Volumen radical (A), diámetro de tallo (B) de plantas de chile (*Capsicum annuum*) pimiento Bell Pepper, por efecto de la inoculación de cepas bacterianas promotoras del crecimiento vegetal, y consorcio de hongos micorrízicos arbusculares (HMA), después de 80 días. n = 12. Medias  $\pm$  Error estándar. Presencia de asterisco indica diferencia estadística entre sus correspondientes barras (LSD,  $\alpha = 0.05$ ). Abreviaturas: P61= *Pseudomonas tolaasii*, R44= *Bacillus pumilus*, Mezcla= P61+R44.



**Figura 5.4.** Fv/Fo (A), unidades SPAD (B) de plantas de Chile (*Capsicum annuum*) pimienta Bell Pepper, por efecto de la inoculación de cepas bacterianas promotoras del crecimiento vegetal, y consorcio de hongos micorrízicos arbusculares, después de 80 días. n = 12. Medias  $\pm$  Error estándar. Presencia de asterisco indica diferencia estadística entre sus correspondientes barras (LSD,  $\alpha = 0.05$ ). Abreviaturas: control = Testigo absoluto, P61= *Pseudomonas tolaasii*, R44= *Bacillus pumilus*, Mezcla= P61+R44.

En el caso del factor inoculación bacteriana, los valores de Fv/Fo fueron menores estadísticamente ( $P \leq 0.05$ ) en los tratamientos inoculados con P61, Mezcla y R44 en comparación con el control. Sin embargo, en el factor micorrización, los tratamientos con HMA mostraron significativamente ( $P \leq 0.05$ ) mayor valor de Fv/Fo en comparación con aquellos sin la micorrización. En particular, los tratamientos P61, y R44+HMA mostraron estadísticamente ( $P \leq 0.05$ ) menor valor de Fv/Fo con respecto al control (Figura 5.4B).

La colonización micorrízica mostró diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ). Los tratamientos HMA, R44+HMA, y Mezcla+HMA fueron estadísticamente mayores que P61+HMA. No se observaron vesículas y arbusculos en ningún tratamiento (Cuadro 5.1).

**Cuadro 5.1.** Colonización micorrízica (total, arbusculos y vesículas) en raíces de plantas de pimiento Bell Pepper (*Capsicum annuum*), inoculadas con bacterias promotoras del crecimiento vegetal y consorcios de hongo micorrízicos, después de 80 días.

Inoculación bacteriana	Consorcio micorrízico	Colonización micorrízica (%)		
		Total	Arbusculos	Vesículas
Control	HMA	11.3a	0	0
P61	HMA	7.7b	0	0
R44	HMA	11.8a	0	0
Mezcla	HMA	10.5a	0	0

\*No se encontró colonización micorrízica en los tratamientos que no fueron inoculados con el consorcio micorrízico. HMA= Consorcio de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) conformado por *Funneliformis aff. geosporum* y *Claroideoglossum* spp., P61= *Pseudomonas tolaasii*., R44= *Bacillus pumilus*., y Mezcla= *Pseudomonas tolaasii* y *Bacillus pumilus*. Medias con la misma letra en columnas son estadísticamente iguales (LSD,  $\alpha = 0.05$ ).

#### 5.4. DISCUSIÓN

La combinación entre BPCV y HMA que mostró mayor efecto en altura de planta, peso seco total y peso seco aéreo, con respecto a las demás combinaciones en plántulas de chile Bell Pepper correspondió al tratamiento R44+HMA; sin embargo, la cepa P61, por si sola, mostró mayor efecto en la mayoría de las variables en comparación con el resto de los

tratamientos, y particularmente con el control. Lo anterior denota el potencial que podrían tener estos microorganismos en la promoción del crecimiento vegetal, particularmente en Chile.

El desarrollo de plántulas sanas y vigorosas es fundamental para conseguir rápido anclaje al suelo en la etapa de trasplante y mejor adaptación en campo (Diniz *et al.*, 2009). Por tal razón, la etapa de producción de plántulas en semilleros es la indicada para llevar a cabo la inoculación de los microorganismos benéficos, debido a que su aplicación va dirigida a un pequeño cepellón, garantizando con ello que, los microorganismos rápidamente hagan contacto con el sistema radical de las plantas, y que la competencia con otros microorganismos sea mínima. Además, la mano de obra en esta etapa es obligatoria, y se podría aprovechar para llevar a cabo la inoculación, ya que en campo resultaría más costoso, y los microorganismos podrían tener mayor dificultad para colonizar de manera efectiva, la rizosfera de la planta (Russo y Perkins-Veazie, 2010; Anith *et al.*, 2015).

Algunos mecanismos característicos en la promoción del crecimiento vegetal de los géneros bacterianos utilizados en este experimento, han sido documentados. *Pseudomonas tolaasii* produce auxinas y solubiliza fósforo (Dell'Amico *et al.*, 2008), mientras que *Bacillus pumilus* promueve el crecimiento, solubiliza fósforo y produce auxinas (Kumar *et al.*, 2011). Además, su inoculación ha producido efectos benéficos en diversos cultivos como arroz (Adhikari *et al.*, 2001), maíz (Viruel *et al.*, 2014; Kuan *et al.*, 2016), canola (Dell'Amico *et al.*, 2008), plátano (Cruz-Martín *et al.*, 2015), té blanco (Chakraborty *et al.*, 2013), soya (Stefan *et al.*, 2010), albahaca (Murugappan *et al.*, 2013), y melón y sandía (Vavrina, 1999).

De igual manera, los géneros de HMA utilizados en este experimento (*Funneliformis aff. geosporum* y *Claroideoglossum* spp.) tienen la capacidad de promover el

crecimiento en los cultivos de papaya (Alarcón *et al.*, 2012), papa (Senés-Guerrero y Schübler, 2016), trigo (Aghili *et al.*, 2014), garbanzo (Bazghaleh *et al.*, 2015), entre otros.

Las variables altura de planta, número de hojas, área foliar, peso seco aéreo y total, mostraron diferencias significativas mayor efecto positivo, especialmente en las plántulas inoculadas con la cepa P61 sin HMA, y R44+HMA, en comparación con el testigo sin inocular. Este efecto positivo de la inoculación dual de BPCV y HMA puede deberse a la combinación de ciertos mecanismos utilizados por ambos grupos microbianos para promover el crecimiento vegetal (Boostani *et al.*, 2014). Neeraj (2011) observó un aumento significativo en altura y materia seca de plantas de frijol inoculadas con HMA (*Glomus sinuosum*, *Gigaspora albida*) en combinación con la bacteria *P. fluorescens*, confirmando el sinergismo benéfico de los HMA con BPCV. Sin embargo, existen estudios en los que la doble inoculación disminuye el crecimiento vegetal cuando se inoculan ambos grupos microbianos de forma conjunta. Larsen *et al.* (2009) observaron una disminución en el crecimiento de plantas de *Cucumis sativus* inoculadas con *G. intraradices* y *P. macerans*. Este efecto pudo haber ocurrido con la combinación de P61+HMA, pues su inoculación resultó en la disminución del crecimiento en plántulas de chile Bell Pepper.

El diámetro de tallo con la interacción de BPCV con HMA no mostró incrementos significativos en comparación con su inoculación por separado; sin embargo, el tratamiento control mostró menor diámetro de tallo que el resto de los tratamientos. Respuestas similares fueron observadas por Kavatagi y Lakshman (2014) en plantas de tomate inoculadas con *Glomus fasciculatum*, *Pseudomonas fluorescens* y *Azotobacter chroococcum*.

El peso seco de la raíz y el volumen radical mostraron mayor respuesta al inocular las bacterias sin HMA. Este efecto se puede atribuir a que las hifas de los HMA exploran de forma más efectiva el suelo, ayudan absorber y asimilar nutrientes en las plantas, es decir,

actúan como una extensión de las raíces, por lo que la planta no requiere de mayor desarrollo radical para absorber y asimilar nutrientes (Garg y Chandel, 2010). Por ejemplo, Aguirre-Medina *et al.* (2002) encontraron que la inoculación con HMA incrementó el desarrollo de la parte aérea, pero condujo a menor peso seco de la raíz, en plántulas de frijol. Por otro lado, Soti *et al.* (2015) observaron una respuesta similar en *Lygodium microphyllum*, al obtener una correlación negativa entre la micorrización y el crecimiento de la raíz, sin afectar el desarrollo de la parte aérea. Lo anterior indica que la respuesta en el crecimiento de la raíz de una planta micotrófica podría estar mediada por la presencia de los HMA.

Las BPCV al producir fitohormonas y otras señales pudieron haber conducido a la modificación de la arquitectura del sistema radical, al inducir mayor ramificación de las raíces laterales y mayor desarrollo de pelos radicales, lo que pudo verse reflejado en mayor peso seco de la raíz y volumen radical (Vacheron *et al.*, 2013). Respuesta similar observaron Díaz-Vargas *et al.* (2001) en plantas de lechuga inoculadas con BPCV, las cuales incrementaron significativamente el volumen radical en comparación con el control.

La medición de unidades SPAD proporciona un método sencillo, rápido y no destructivo para estimar el contenido de clorofila en la hoja (Xiong *et al.*, 2015). Además, es extremadamente versátil para la determinación rápida de nitrógeno en hoja, siempre y cuando se aplique una adecuada ecuación de calibración (Uddling *et al.*, 2007). Todos los tratamientos inoculados con HMA mostraron valores altos de unidades SPAD con respecto a los tratamientos inoculados solamente con bacterias y al testigo sin inocular. Lo anterior puede ser atribuido a la capacidad que tienen los HMA para absorber mayor cantidad de fósforo y nitrógeno. Koide y Kabir (2000) mencionan que los HMA por medio de sus hifas y la secreción de fosfatasas extracelulares son capaces de capturar, transportar y solubilizar

los elementos nutritivos poco disponibles en el suelo. Lo anterior hace que los HMA puedan tomar nutrientes del sustrato, además de aquellos aportados con la solución nutritiva, para después disponerlo a la planta, lo que se ve reflejado en mayores lecturas de unidades SPAD. Camen *et al.* (2010) observaron una relación positiva entre el contenido de clorofila y el porcentaje de colonización micorrízica en plantas de lechuga. Así mismo, Kumar *et al.* (2012) indicaron que las cepas bacterianas P10 y P13 (*Pseudomonas fluorescens*) al ser inoculadas conjuntamente con HMA incrementaron el contenido de clorofila en plantas de sorgo. Por otra parte, las lecturas bajas de unidades SPAD en los tratamientos inoculados solamente con BPCV, es atribuido a que las cepas bacterianas utilizadas en este experimento no tienen la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico. Una respuesta similar observaron Rodríguez-Mendoza *et al.* (2013) en plantas de melón inoculadas con BPCV, las cuales mostraron mayor altura de planta y peso seco del follaje comparado con un testigo sin inocular, pero no observaron incrementos significativos en el contenido relativo de clorofila (unidades SPAD).

A través de la fluorescencia de la clorofila, se puede medir la eficiencia fotoquímica del fotosistema II (PSII), la cual es una técnica efectiva no invasiva para detectar daños en el aparato fotosintético de las plantas (Baker, 2008). La relación  $F_v/F_o$  (relación entre la fluorescencia variable y fluorescencia inicial) indica el potencial de la capacidad fotosintética del PSII (Zhang *et al.*, 2014). Este parámetro es el más sensible en el componente de la cadena fotosintética de transporte de electrones y una disminución en esta relación resulta en deterioros del transporte de electrones (Pereira *et al.*, 2000). Las plantas inoculadas con HMA excepto en el tratamiento R44+HMA, mostraron valores superiores de  $F_v/F_o$  con respecto a las plantas inoculadas únicamente con BPCV y del control sin inocular. Esto puede deberse a que los HMA tienen la capacidad de acelerar la

actividad fotosintética en las plantas (Goicoechea *et al.*, 2014; Elhindi *et al.*, 2016), así como, mitigar el estrés de las plantas por factores de estrés abióticos tales como sequía, niveles excesivos de elementos tóxicos, salinidad y desequilibrios por deficiencias de nutrientes (Ortas, 2003; Zhao *et al.*, 2015; Rouphael *et al.*, 2015).

Las lecturas bajas de Fv/Fo en el tratamiento R44+HMA, no coinciden con las demás combinaciones; esta combinación al ser la más efectiva en promover el crecimiento vegetal de las plantas de pimiento Bell Pepper, pudo haber agotado los nutrimentos del sustrato, provocando así, un estrés nutrimental al final del experimento, momento en el cual se tuvieron lecturas bajas de Fv/Fo (Zhang *et al.*, 2014). Lo mismo pudo haber ocurrido con las cepas P61, y la mezcla de las dos bacterias, cuyas plantas también tuvieron lecturas bajas de Fv/Fo. Sin embargo, existen reportes que indican que *B. pumilus* inhibe el crecimiento de *P. tolaasii* en pruebas *in vitro* (Tsukamoto *et al.*, 2002), por lo que las lecturas menores de Fv/Fo en las plantas inoculadas con la mezcla de las bacterias, pudieron deberse a una inhibición entre éstas, afectando los beneficios para las plantas.

La colonización micorrízica fue baja en todos los tratamientos inoculados con HMA; sin embargo, la respuesta de las plantas a los HMA fue favorable en la mayoría de las variables excepto en el volumen radical y en el peso seco de la raíz. Aunque el porcentaje de colonización micorrízica total haya sido bajo en los tratamientos con HMA, no limitó el beneficio de los HMA en las plantas. Lo anterior indica que el grado de colonización micorrízica, no siempre es un indicador claro del beneficio potencial que puede representar para su planta hospedante (Alarcón y Ferrera-Cerrato, 1999; Hess *et al.*, 2005). No obstante, el tratamiento P61+HMA mostró menor porcentaje de colonización micorrízica en comparación con los demás tratamientos inoculados con HMA. Lo anterior denota que se pudo haberse tenido una interacción antagonista entre *P. tolaasii* y los HMA.

Aunque no existen reportes de antagonismo de *P. tolaasii* hacia HMA (*Funneliformis aff. geosporum* y *Claroideoglosum* sp.), algunas toxinas de bajo peso molecular de origen bacteriano pueden actuar como agentes causantes de inhibición fúngica y muerte celular (Haas y Defago, 2005). Por ejemplo, la toxina tolaasina producida por *P. tolaasii*, parece ser el factor primario en la enfermedad de la mancha marrón de cuerpos fructíferos de *Agaricus bisporus* (Rainey *et al.*, 1993).

## 5.5. CONCLUSIONES

La cepa P61 sin HMA y la interacción R44+HMA incrementaron el crecimiento de plantas de pimiento Bell Pepper. El consorcio de HMA por si solo produjo efectos benéficos en la altura, el área foliar, el diámetro de tallo, y en el peso seco aéreo y total de las plantas en comparación con el testigo sin inocular. Además, produjo efectos positivos en el contenido relativo de clorofila y en la capacidad fotosintética del PSII.

En general, el efecto sinérgico entre BPCV y HMA se obtuvo principalmente con R44+ HMA, al incrementar la altura de la planta; sin embargo, P61 sin HMA promovió mayor crecimiento de las plantas. Cuando se inoculó la Mezcla (*Pseudomonas tolaasii* y *Bacillus pumilus*) combinada con HMA, no se observaron resultados significativos, por lo que la Mezcla tuvo mayor efecto en ausencia de los HMA. El potencial biotecnológico de estos microorganismos puede ser utilizado para reforzar el desarrollo de plántulas de Chile Bell Pepper, para inducir mayor vigor y adaptación ante diferentes situaciones de estrés que pudieran presentar después del trasplante.

## CAPÍTULO VI.

**CRECIMIENTO VEGETATIVO Y CALIDAD DE FRUTOS DE PIMIENTO BELL  
PEPPER INOCULADO CON HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES Y  
RIZOBACTERIAS PROMOTORAS DE CRECIMIENTO VEGETAL EN SISTEMA  
HIDROPÓNICO**

Se estudió el sinergismo entre la bacteria promotora del crecimiento vegetal (BPCV) cepa P61 (*Pseudomonas tolaasii*) y su interacción con un consorcio de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) conformado por *Funneliformis aff. geosporum* y *Claroideoglossum* sp., y dos soluciones nutritivas (Steiner al 50% y 100%), con base en su efecto en plantas de chile Bell Pepper “California Wonder”. Las plantas fueron inoculadas con los HMA en la siembra, y las BPCV 15 días después de la emergencia y 10 días después del trasplante. Las plantas se mantuvieron en condiciones de invernadero y riegos con la solución Steiner, durante 140 días. Se observaron incrementos en absorción de nutrimentos, excepto fósforo, al utilizar únicamente el consorcio de HMA respecto al control; sin embargo, al utilizar BPCV la absorción de fósforo incrementó. Los mejores resultados se observaron al inocular conjuntamente HMA y BPCV con solución Steiner al 100%, en la mayoría de las variables respecto al control. En calidad de fruto hubo incrementos en el contenido de azúcares totales, °Brix, y peso fresco, cuando se inocularon HMA y BPCV, independientemente del porcentaje de solución Steiner. Tanto HMA como BPCV pueden utilizarse para reforzar el desarrollo de plantas de chile Bell Pepper, y la calidad de fruto, en condiciones de invernadero.

**Palabras clave:** altura, área foliar, peso seco total, azúcares totales, sólidos solubles totales, *Pseudomonas*

**CHAPTER VI.**

**VEGETATIVE GROWTH AND FRUIT QUALITY OF BELL PEPPERS  
INOCULATED WITH ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI AND PLANT  
GROWTH PROMOTING RHIZOBACTERIA IN HYDROPONIC SYSTEM**

This study assessed the synergism between the plant growth promoting rhizobacterium (PGPR) *Pseudomonas tolaasii* strain P61, and the consortium of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) conformed by *Funneliformis* aff. *Geosporum* and *Claroideoglossum* sp, and two nutrient solutions (Steiner 50% and 100%), based on their effects on Bell Pepper "California Wonder" plants. Plants were inoculated with AMF at sowing, and the PGPR was inoculated 15 days after emergence and 10 days after transplanting. Plants were kept under greenhouse conditions, and irrigated with the Steiner nutrient solution, for 140 days. Excepting for P, an increase in the nutrient uptake were observed due to AMF inoculation when compared to the control; however, the PGPR inoculation resulted in increased P absorption. Best results for most of growth parameters were observed with the dual inoculation of AMF and PGPR combined with 100% Steiner solution, in comparison to the control. Regarding fruit quality, an increase in total sugar content, °Brix and fresh weight was observed when AMF and PGPR were inoculated independently of the Steiner nutrient solution dose. Either AMF or PGPR can be directed for improving the growth of Bell Pepper plants and fruit quality at greenhouse conditions.

**Keywords:** height, leaf area, total dry weight, total sugars, total soluble solids, *Pseudomonas*.

## 6.1. INTRODUCCIÓN

El uso indiscriminado de fertilizantes minerales en la producción de cultivos hortícolas es una seria amenaza a los ecosistemas al contaminar la atmósfera, el suelo y el agua (Leogrande *et al.*, 2013). En el suelo, la aplicación continua de productos químicos afectan negativamente la capacidad de retención de agua, la fertilidad, y el desbalance de nutrimentos al aumentar la salinidad (Savci, 2012). En consecuencia, diversos países en desarrollo tienen el reto de implementar nuevos modelos agrícolas, más sustentables con el ambiente y los recursos naturales, y que permitan la producción de alimentos para satisfacer a un número creciente de habitantes en el mundo (Thilagar *et al.*, 2016).

Los biofertilizantes son sustancias que contienen microorganismos vivos, como bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV) y hongos micorrízicos arbusculares (HMA), que cuando se aplican a semillas, plantas o suelo, colonizan la rizosfera o el interior de las raíces, cuya actividad aumenta el crecimiento y el suministro de nutrientes a la planta (Malusa y Vassilev, 2014). Además, estos microorganismos pueden ser una alternativa al problema de la sobrefertilización y lograr una agricultura sostenible (Gomiero *et al.*, 2011).

El uso de consorcios de HMA con algunas BPCV que incrementa la cantidad y calidad de la producción de plantas en la agricultura, es una biotecnología amigable con el medio ambiente. En este contexto, se estudia una amplia variedad de BPCV que poseen diversas cualidades benéficas como la desintoxicación por metales pesados, la degradación y/o tolerancia a los plaguicidas, la tolerancia a la salinidad, el biocontrol de fitopatógenos e insectos, la estimulación del crecimiento de plantas mediante la producción de fitohormonas, o de sideróforos, la fijación de nitrógeno atmosférico, la mineralización del

fósforo orgánico, y el aumento de la absorción de minerales (Ahemad y Kibret, 2014; Lin *et al.*, 2014; Pii *et al.*, 2015; Raines *et al.*, 2015; Wei *et al.*, 2016;).

Por otra parte, la simbiosis micorrízica arbuscular tiene un papel esencial para la absorción de nutrientes de más del 90% de las plantas terrestres (Smith y Read, 2008). Los HMA (Phylum Glomeromycota; (Schüßler *et al.*, 2001) son ubicuos y pueden representar hasta el 50% de la biomasa microbiana en los suelos (Ryan y Graham, 2002). El micelio extraradical del hongo actúa como una extensión del sistema radical y aumenta la absorción de fósforo (P), nitrógeno (N), azufre y magnesio, pero también de microelementos como el cobre y el zinc. Además, los HMA también inducen resistencia de las plantas contra estrés abiótico (sequía, salinidad, metales pesados) y biótico (patógenos, herbívoros) (Smith y Read, 2008), y desempeñan un papel clave en la supervivencia de las plantas, y actúan como "ingenieros del ecosistema" creando o modificando el hábitat de las comunidades vegetales (Cameron, 2010).

Los HMA y las BPCV pueden actuar sinérgicamente para estimular el crecimiento vegetal a través de una serie de mecanismos; ambos grupos son de importancia crucial en los sistemas agrícolas de bajos insumos o sostenibles, los cuales dependen de los procesos biológicos, en lugar de agroquímicos, para mantener la fertilidad del suelo y la salud de las plantas (Artursson *et al.*, 2006; Mahanty *et al.*, 2016).

Los sistemas hidropónicos representan tecnologías de cultivo que utilizan soluciones nutritivas en lugar de suelo agrícola. En ocasiones se usan medios naturales o artificiales, como turba de musgo, aserrín, carbón vegetal, lana de roca, fibra de coco, gránulos de arcilla, grava o cerámica para proporcionar soporte físico a las plantas (Bhattarai *et al.*, 2008). Los sistemas hidropónicos ofrecen diversos beneficios, como

mayor capacidad de reutilizar agua y nutrientes, fácil control ambiental y la prevención de plagas y enfermedades originadas en el suelo (Lommen, 2007). Debido a esto, los sistemas hidropónicos han sido ampliamente utilizados para el cultivo de varias plantas, por lo que la demanda de productos hidropónicos es cada vez mayor. De acuerdo a esto, se han realizado diversas investigaciones sobre el efecto de las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV) en los sistemas hidropónicos (Lee y Lee, 2016). Por ejemplo, Raaijmakers *et al.* (2010) mencionan que *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp. y *Streptomyces griseoviridis* pueden prevenir o disminuir el efecto de los patógenos en diversas plantas. Asimismo, Liu *et al.* (2007) cuando aplicaron *Pseudomonas chlororaphis* o *Bacillus cereus* a crisantemos (*Chrysanthemum* sp.), la infección por *Pythium* sp. disminuyó alrededor del 20%. *Bacillus subtilis*, es bien conocido como potenciador del crecimiento de las plantas con la capacidad de disminuir los efectos de la salinidad en soluciones nutritivas (Bochow 1992; Böhme, 1999). Por otra parte *Bacillus amyloliquefaciens* demostró aumentar la eficiencia en el uso del agua en los tomates (*Solanum lycopersicum* L.), junto con la calidad (mayor vitamina C que los grupos de control) (Gül *et al.*, 2008). *Bacillus licheniformis* aumentó el diámetro, el peso de tomates (*Solanum lycopersicum* L.) y pimientos (*Capsicum annuum* L.) y ha promovido mayores rendimientos de cada cultivo (García *et al.*, 2004).

Tanto HMA como BPCV se han utilizado en la agricultura como biofertilizantes, agentes de biocontrol y biorremedidores en cultivos como frijol, pepino, chile, entre otros. Además las BPCV se han introducido en suelo y en sistemas hidropónicos con efectos positivos sobre la calidad de planta (Lee *et al.*, 2010; Lee *et al.*, 2015). Tanwar *et al.* (2013) mencionan que la inoculación doble de plantas de *Capsicum annuum* con *Glomus mosseae*, *Acaulospora laevis* y *Pseudomonas fluorescens* aumentaron el crecimiento, la tasa

fotosintética, el número y peso de frutos, el contenido de nitrógeno total y el contenido de fósforo.

A pesar de los beneficios mencionados, existe escasa información sobre el efecto de BPCV como *Pseudomonas tolaasii*, en combinación con consorcios de HMA en la promoción del crecimiento y producción del cultivo de chile Bell Pepper en sistemas hidropónicos. Por lo anterior, la presente investigación tuvo como objetivo evaluar el sinergismo entre BPCV y HMA en el crecimiento vegetativo y calidad de frutos de pimiento Bell Pepper cv. "California Wonder" bajo un sistema hidropónico en invernadero y diferentes dosis de fertilización.

## **6.2. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **6.2.1. Material vegetal y condiciones experimentales**

La investigación se realizó bajo condiciones de invernadero (19° 27' latitud norte, 98° 88' longitud oeste y 2240 msnm). La humedad relativa promedio máxima fue de 97.32 % ± 2.83 y mínima de 21.27 % ± 14.08, y la temperatura promedio máxima de 37.70 °C ± 7.28 y mínima de 9.67 °C ± 4.11. Se utilizaron semillas de chile Bell Pepper variedad pimiento "California Wonder" (Distribuidora Rancho Los Molinos S.A. de C.V.), con germinación mayor del 89%.

### **6.2.2. Material microbiológico**

Se utilizó un consorcio de hongos micorrízicos arbusculares (HMA), aislado de la rizosfera de chile en el estado de Puebla, y conformado por *Funneliformis aff. geosporum* y *Claroideoglosum* sp. El inóculo micorrízico consistió de 2296 esporas por 100 g de suelo seco.

Se utilizó la cepa bacteriana P61 (*Pseudomonas tolaasii*) fue crecida en caldo nutritivo a 28 °C por 72 h, y posteriormente centrifugada a 7000 rpm por 15 minutos para separar el concentrado microbiano del medio de cultivo. Este concentrado se resuspendió en agua destilada estéril y centrifugado en dos ocasiones con el propósito de eliminar los nutrientes residuales. La concentración de células bacterianas fue de  $1 \times 10^8 \text{ mL}^{-1}$ . Algunas características reportadas para el género y especie de la BPCV utilizada en este experimento, corresponden a la producción de auxinas y solubilización de fosfato para *Pseudomonas tolaasii* (Dell'Amico *et al.*, 2008).

#### **6.2.4. Siembra de la semilla e inoculación de los microorganismos**

La siembra de las semillas se realizó en charolas de unicel de 200 cavidades. Se sembró una semilla por cavidad en un sustrato conformado por arena, turba y perlita (1:1:1 v/v), previamente esterilizado (121 °C durante 3 h, por dos días consecutivos).

La inoculación del consorcio micorrízico, se realizó al momento de la siembra mezclando el inóculo con el sustrato a una proporción de 1:4 v/v. La inoculación de las cepa bacteriana se llevó a cabo 15 días después de la germinación de semillas, aplicando 2 mL de inóculo directamente a la zona de la raíz y una segunda inoculación a los 10 días después del trasplante.

Las plantas permanecieron 80 días bajo condiciones de almácigo en invernadero, posteriormente se trasplantaron en bolsas de polietileno negro con dimensiones de 40 x 40 cm, con un contenido de 12 litros de tezontle rojo sin cribar, utilizado como sustrato.

#### **6.2.5. Aplicación de solución nutritiva y manejo agronómico**

Se utilizó la solución de Steiner al 50% y 100% (Steiner, 1961), con una conductividad eléctrica de 1.0 y 2.0 dS  $\text{m}^{-1}$  respectivamente. Para su elaboración se utilizaron las

siguientes sales minerales, con ( $\text{g L}^{-1}$ ) 1.062 de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , 0.312 de  $\text{KNO}_3$ , 0.27 de  $\text{K}_2\text{SO}_4$ , 0.492 de  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , y 0.136 de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  para la solución al 100%, y para la solución al 50% se aplicó la mitad de estos elementos  $\text{L}^{-1}$  de agua, así como un combo de micro elementos, ajustando el pH a 6.5.

La solución nutritiva fue aplicada por medio de goteros en forma de espagueti (dispositivos de goteo) que de manera dosificada proporcionaron el riego en la cantidad necesaria.

La frecuencia y duración de los riegos estuvo en función de los factores ambientales, manteniendo siempre una humedad constante. El suministro de solución nutritiva (Steiner 50 y 100%) varió de acuerdo a la edad de la planta; para aquellas de 15 días después del trasplante, el gasto aplicado fue de  $350 \text{ mL planta}^{-1}$ , y en plantas en producción se aplicó aproximadamente  $1.3$  a  $2 \text{ L planta}^{-1}$  de las soluciones nutritivas, con base en trabajos previos (Alarcón y Egea, 2000) para establecer el adecuado nivel de humedad en los sustratos.

Se manejaron dos tallos por planta, la poda consistió en la eliminación de los rebrotes del tallo principal, y además se colocaron tutores por cada rama para mantenerlas erguidas, por medio de hilo de rafia, desde el tallo principal de las plantas hasta el techo del invernadero.

#### **6.2.6. Variables evaluadas**

Después de 140 días del trasplante, las plantas fueron evaluadas y cosechadas, y se les midió altura de planta, diámetro de tallo, número de hojas, área foliar, peso seco de raíz, peso seco aéreo y total, eficiencia fotoquímica del fotosistema II ( $F_v/F_o$ = relación entre la

fluorescencia variable y fluorescencia inicial), contenido relativo de clorofila, y colonización micorrízica.

El área foliar fue determinada con un medidor de área foliar marca LICOR (LI 3000, Inc. Lincoln, NE, EUA). La biomasa seca se obtuvo al secar (70 °C por 72 h) hojas, tallos y raíces por separado y pesarlos en balanza analítica (Sartorius, Modelo Analytic AC 210S, Illinois, USA). La eficiencia fotoquímica del fotosistema II (Fv/Fo) se midió con un fluorómetro OS-30p+ (Opti-Sciences) considerando lecturas en la hoja más recientemente madura.

El contenido relativo de clorofila (Unidades SPAD) en hojas se midió con un equipo SPAD-502 (Minolta, Japan), tomando lecturas en la hoja más recientemente madura. La colonización micorrízica se evaluó con la técnica de clareo y tinción (Phillips y Hayman, 1970) y el porcentaje de colonización se determinó mediante la estimación visual del porcentaje de raíz ocupado por HMA, tomando en cuenta la presencia o ausencia de estructuras fúngicas en fragmentos de raíz montados en portaobjetos (Biermann y Linderman, 1983).

Adicionalmente, se realizó un análisis foliar de macronutrientes (N, P, K, Mg y Ca) y micronutrientes (Fe, Mn, Zn, Na y Cu). Para determinar el contenido de nitrógeno total, se utilizó el método kjeldahl (AOAC, 1999); el P total, según el método de Allen *et al.*, (1997); el K, mediante extracción con acetato de amonio por fotometría de llama; y el Ca y Mg, mediante determinación colorimétrica en un espectrofotómetro de absorción atómica (Varian SpectrAA 220). Los micronutrientes Fe, Mn, Zn, Na y Cu fueron evaluados por absorción atómica, previa digestión con una mezcla HNO<sub>3</sub> y HClO<sub>4</sub> en proporción 2:1 (AOAC, 1990).

También se realizó un estudio sobre calidad y parámetros químicos de frutos, seleccionado seis frutos completamente desarrollados por tratamiento, en las que se evaluaron las siguientes variables: peso fresco del fruto, pérdida de peso, firmeza, longitud y ancho del fruto. Los parámetros químicos que se determinaron fueron: sólidos solubles totales (° Brix), acidez titulable, ácido ascórbico (vitamina C), potencial de hidrógeno (pH), y cuantificación de azúcares totales. El peso fresco del fruto se evaluó con una balanza digital (marca Ohaus). La pérdida de peso del fruto consideró los cambios de peso que experimentaron los frutos durante 72 h a temperatura ambiente, y se utilizó una balanza digital (marca Ohaus) y el resultado se reportó como porcentaje de pérdidas acumuladas respecto al peso inicial del fruto. La longitud y el ancho del fruto se midieron con un vernier digital (marca Truper).

Los sólidos solubles totales (°Brix) se determinaron por el método 932.12 de la A.O.A.C. (1990), se utilizó el refractómetro digital PR-32 $\alpha$  marca ATAGO con una capacidad de 0-32 °Brix. Se tomó una gota de jugo a una temperatura de 20 $\pm$ 1°C previamente extraído del fruto, se colocó en el sensor óptico del refractómetro para obtener la lectura correspondiente, la cual se expresó como porcentaje de sólidos solubles totales. La acidez titulable se determinó por el método 942.15 A0AC, (1997), y el contenido ácido ascórbico (Vitamina C) se estimó con el método de titulación visual del 2-6 diclofenol indofenol (AOAC, 1980). Este método se basa en el hecho de que el ácido ascórbico reduce el indicador redox, 2,6 diclorofenol indofenol, presentando el vire de color; el exceso del indicador no reducido es de color rosa en medio ácido, indicando el término de la ecuación oxido-reducción. El potencial de hidrogeno (pH) se determinó pesando diez gramos de muestra de fruto fresco en 50 ml de agua destilada. Enseguida, se licuó y se separó, con ayuda de un cedazo pequeño, se introdujo en el potenciómetro (Termo Orion modelo 420)

para tomar la lectura del pH. El contenido de azúcares totales se determinó por el método antrona (Witham *et al.*, 1971), para la extracción alcohólica de azúcares, se pesó 1 g de fruto de pimiento, se trituró y colocó en vaso de precipitado (PYREX), luego se adicionaron 60 mL de alcohol al 80%. Inmediatamente, la solución se llevó a temperatura de ebullición y se mantuvo por 10 min. La muestra se filtró y se tomó un volumen de 20 mL, conocida como solución madre. Se tomó 1 mL de la solución madre y se llevó a sequedad en baño de María a 55 °C durante 10 min, luego se rehidrató con 15 mL de agua destilada. Posteriormente, en un baño con hielo se colocó un tubo de ensayo de fondo plano (PYREX) y se le agregó 1 mL de la solución, 3 mL de agua destilada y 6 mL de antrona. Posteriormente, los tubos se colocaron en un baño de María y se llevaron a ebullición por 3 min. Transcurrido este tiempo, se sumergieron en agua fría para tomar lecturas de su absorbancia a 600 nm en un espectrofotómetro Spectronic 20. Se utilizó una curva de calibración con soluciones de glucosa conocidas. Los resultados se expresaron como mg de glucosa 100 g<sup>-1</sup> de peso fresco de fruto.

#### **6.2.7. Tratamientos y diseño experimental**

El experimento tuvo un arreglo factorial 2 x 2 x 2 considerando dos niveles para el factor inoculación bacteriana (con BPCV y sin BPCV), dos niveles para el factor micorrización (con y sin el consorcio micorrízico), y dos niveles para el factor fertilización (50 y 100% solución Steiner) obteniendo ocho tratamientos con seis repeticiones, distribuidos en un diseño completamente al azar. Los datos fueron analizados mediante el programa SAS para Windows (SAS Institute Inc. 2002), realizando un análisis de varianza y prueba de comparación de medias (LSD,  $\alpha=0.05$ ).

### 6.3. RESULTADOS

El factor fertilización mostró diferencias significativas ( $P \leq 0.01$ ) en la altura de planta, particularmente por la aplicación del nivel al 100 % de fertilización ( $P \leq 0.05$ ) en comparación con el nivel 50 % de fertilización. El tratamiento BPCV+HMA con fertilización al 100%, fue significativamente ( $P \leq 0.05$ ) mayor al tratamiento sin BPCV+sin HMA con fertilización al 50 % (Cuadro 6.1).

El factor fertilización mostró diferencias significativas en diámetro de tallo ( $P \leq 0.001$ ). La aplicación de 100 % de fertilización fue estadísticamente ( $P \leq 0.05$ ) mayor que el nivel 50 % de fertilización. El tratamientos BPCV+HMA con fertilización al 100% fue estadísticamente ( $P \leq 0.05$ ) mayor a los tratamientos con el régimen de fertilización al 50% y al tratamiento BPCV+sin HMA fertilizado al 100% (Cuadro 6.1).

Se observaron diferencias significativas ( $P \leq 0.001$ ) en el factor fertilización en peso de raíz, el nivel 100 % fue estadísticamente mayor ( $P \leq 0.05$ ) que el nivel 50 %. También se observaron diferencias estadísticas entre los niveles del factor inoculación bacteriana; la inoculación de BPCV fue estadísticamente mayor a los tratamientos sin BPCV. Por otro lado, se observaron diferencias estadísticas en las interacciones BPCV\*HMA y Fert\*BPCV\*HMA; el tratamiento BPCV+HMA con fertilización al 100 % mostró significativamente ( $P \leq 0.05$ ) mayor peso seco de raíz, en comparación con los tratamientos sin BPCV+sin HMA con 50% de fertilización, sin BPCV+HMA 50% de fertilización, BPCV+HMA 50% de fertilización, sin BPCV+sin HMA 100% de fertilización y sin BPCV+HMA 100% de fertilización (Cuadro 6.1).

El factor fertilización con el nivel 100 % mostró significativamente ( $P \leq 0.01$ ) mayor peso seco aéreo respecto al nivel 50 %; por su parte, en el factor HMA, el nivel con HMA

fue significativamente ( $P \leq 0.05$ ) mayor respecto al nivel sin HMA. El tratamiento BPCV+HMA con 100% de fertilización fue estadísticamente mayor en comparación con el resto de los tratamientos (Cuadro 6.1).

En el peso seco de total, se observaron diferencias significativas ( $P \leq 0.001$ ) en los factores fertilización, HMA y BPCV. En el caso del factor fertilización, la aplicación de 100% de la fertilización fue significativamente ( $P \leq 0.05$ ) mayor en comparación con el 50%. En el factor HMA se observó estadísticamente ( $P \leq 0.05$ ) mayor peso seco total en las plantas inoculadas con HMA; similar efecto se obtuvo en el factor inoculación bacteriana donde las plantas inoculadas con BPCV mostraron significativamente ( $P \leq 0.05$ ) mayor peso seco total. Todas las interacciones de los factores mostraron diferencias estadísticas. El tratamiento BPCV+HMA con 100% de fertilización fue estadísticamente ( $P \leq 0.05$ ) mayor en comparación a los demás tratamientos (Cuadro 6.1).

El factor fertilización mostró efectos significativos ( $P \leq 0.001$ ) en el número de frutos por planta; el nivel de 100% de fertilización tuvo mayor efecto con 50%. Todos los tratamientos con 100% de fertilización fueron estadísticamente iguales, pero estadísticamente mayores a los tratamientos sin BPCV+sin HMA con 50% de fertilización y sin BPCV+HMA al 50% de fertilización (Cuadro 6.1).

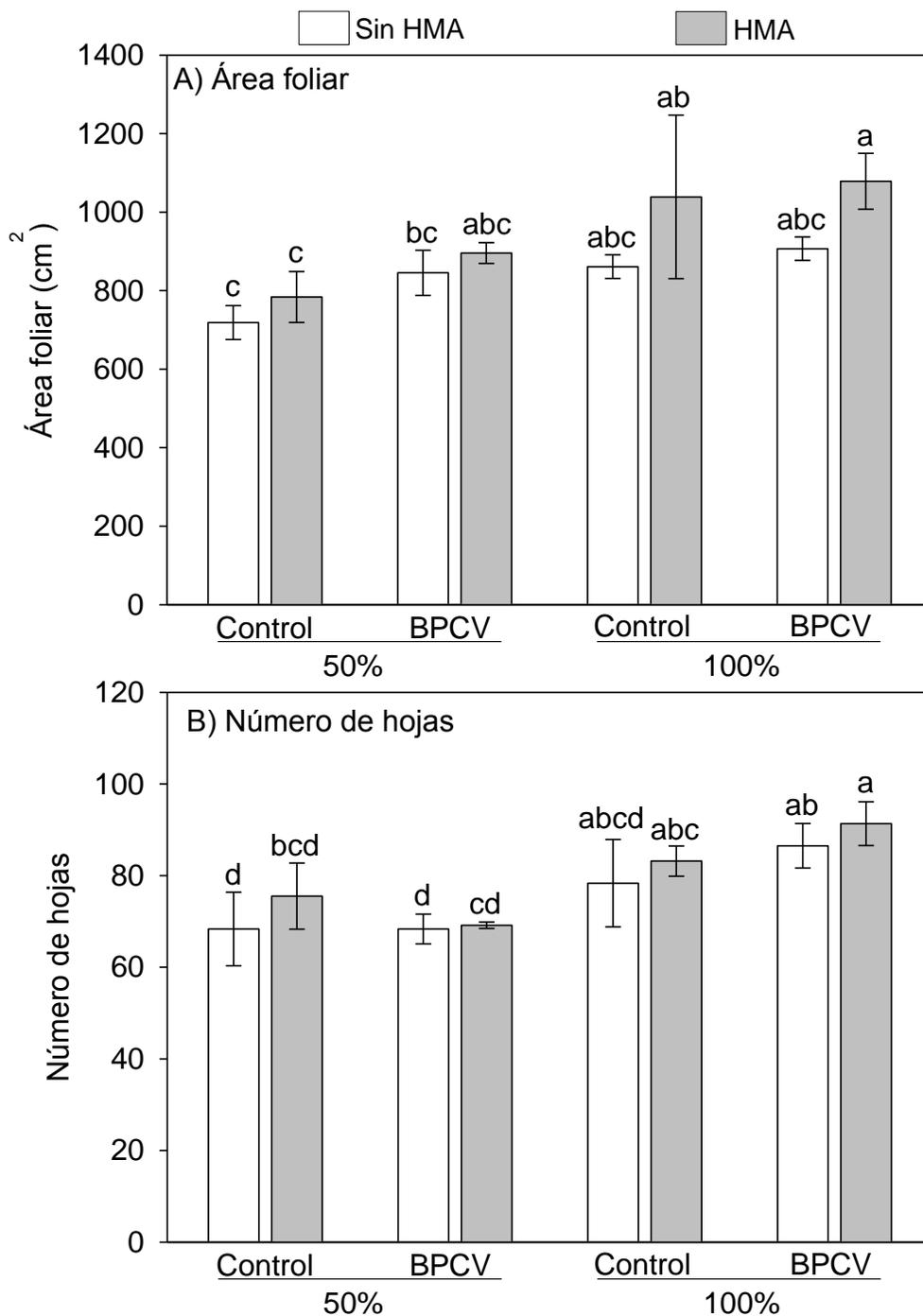
El área foliar y el número de hojas en las plantas de chile mostraron diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0.05$ ) por efecto de los factores BPCV, HMA y solución nutritiva Steiner (Figura 6.1). El tratamiento con el 100 % de la solución Steiner más la inoculación de BPCV y HMA fue estadísticamente ( $P \leq 0.05$ ) mejor al presentar un área foliar de 1078.4 cm<sup>2</sup>, seguido por las plantas tratadas con 100 % de solución Steiner+HMA con 1038.5 cm<sup>2</sup> (Figura 6.1A). El mayor número de hojas se observó en plantas tratadas con el factor 100 %

solución Steiner; particularmente cuando se combinó con BPCV + HMA en comparación con el control al 50% de fertilización.

**Cuadro 6.1.** Altura de planta, diámetro de tallo, peso seco de raíz, parte aérea y total, y número de frutos por planta, en plantas de pimiento Bell Pepper (*Capsicum annuum*) inoculadas con HMA y BPCV, irrigadas con dos concentraciones de solución de Steiner, a los 140 días después del trasplante.

Régimen de fertilización solución Steiner (%)	Inoculación bacteriana	Condición micorrízica	Altura de planta (cm)	Diámetro de tallo (mm)	Peso seco raíz (g)	Peso seco aéreo (g)	Peso seco total (g)	Número de frutos por planta	
50	Sin	Sin hongo	41.00±2.19b	9.25±0.10d	3.55±0.27d	15.93±0.91e	19.48±0.73e	5.33±0.42b	
		HMA	42.41±1.06ab	9.56±0.22c	5.86±0.90bc	19.57±2.11bcd	25.43±1.66c	5.33±0.33b	
	BPCV	Sin hongo	43.83±0.65ab	9.63±0.15c	6.21±0.48ab	18.23±0.65de	24.44±1.01d	5.83±0.30ab	
		HMA	42.75±1.48ab	9.31±0.14d	4.16±0.44d	19.81±0.50bcd	23.97±0.78d	5.83±0.30ab	
100	Sin	Sin hongo	45.50±2.16ab	10.03±0.19ab	5.86±0.49bc	19.00±0.92cde	24.86±0.78cd	6.33±0.42a	
		HMA	45.41±0.96ab	10.03±0.09ab	5.56±0.24c	22.77±4.04b	28.34±4.14b	6.50±0.42a	
	BPCV	Sin hongo	45.33±0.78ab	9.85±0.20b	6.07±0.28abc	22.32±1.56bc	28.39±1.34b	6.50±0.42a	
		HMA	46.08±2.55a	10.17±0.11a	6.53±0.37a	28.64±2.17a	35.17±2.28a	6.66±0.33a	
			DMS <sub>(LSD=0.05)</sub>	4.56	0.22	0.63	3.4	0.91	0.96
			C.V.	8.81	1.95	9.85	14.22	2.98	13.54
	Significancia		Fertilización	0.01	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001
			BPCV	NS	NS	0.05	0.05	0.001	NS
			HMA	NS	NS	NS	0.001	0.001	NS
			Fert*BPCV	NS	NS	NS	NS	0.001	NS
			Fert*HMA	NS	NS	NS	NS	0.001	NS
			BPCV*HMA	NS	NS	0.001	NS	0.05	NS
			Fert*BPCV*HMA	NS	0.01	0.001	NS	0.001	NS

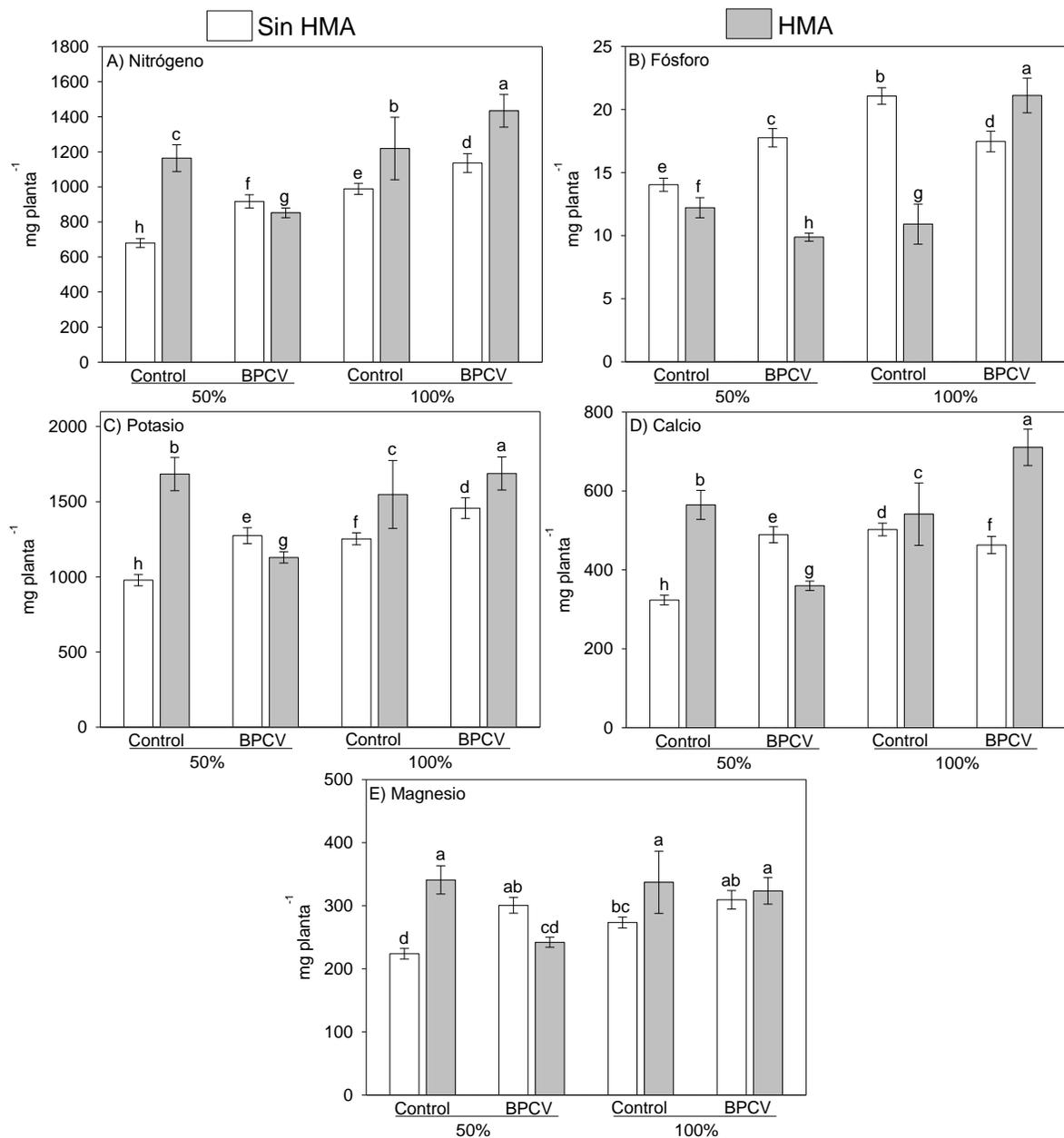
HMA= *Funneliformis aff. geosporum* y *Claroideoglossum* sp.; BPCV= *Pseudomonas tolaasii*; DMS= Diferencia mínima significativa; NS= No significativo; CV= Coeficiente de variación.



**Figura 6.1.** Área foliar (A), número de hojas (B), de plantas de chile (*Capsicum annuum*) pimiento Bell Pepper, por efecto de la inoculación de una cepa bacteriana promotora del crecimiento vegetal, un consorcio de hongos micorrízicos arbusculares (HMA), y dos concentraciones de solución nutritiva Steiner (50 y 100%), después de 145 días del trasplante. n = 6. Medias ± Error estándar. Letras idénticas sobre las barras en su correspondiente gráfica, son estadísticamente iguales (LSD,  $\alpha = 0.05$ ). Abreviaturas: BPCV= *Pseudomonas tolaasii*, 50% = Solución Steiner al 50%, 100%= Solución Steiner al 100%.

Los inoculantes tuvieron una influencia positiva en la absorción de nutrientes por las plantas después de 145 días del trasplante. Los contenidos foliares de nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio, hierro, cobre, zinc y manganeso, mostraron diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre cada uno de los tratamientos evaluados (Figura 6.2 y 6.3). El contenido de nitrógeno fluctuó entre 680 a 1434 mg planta<sup>-1</sup>, sobresaliendo el tratamiento con 100 % de solución Steiner+BPCV+HMA, mientras que el valor más bajo se obtuvo en el tratamiento control con 50 % de solución Steiner (sin BPCV+ sin HMA) (Figura 6.2A).

Con respecto al contenido de fósforo en tejido vegetal, se observaron diferencias significativas entre los ocho tratamientos, los valores fluctuaron entre 9.9 mg planta<sup>-1</sup> en el tratamiento 50 % solución Steiner+BPCV+HMA, hasta 21.1 mg planta<sup>-1</sup> en el tratamiento 100 % solución Steiner+BPCV+HMA, respectivamente. Con excepción de este último tratamiento (100 % Steiner+BPCV+HMA), la micorrización en las plantas mostró presentaron un bajo contenido de fósforo respecto a los tratamientos restantes (control y con BPCV) ya se con 50 o 100 % de solución Steiner (Figura 6.2B).



**Figura 6.2.** Contenido de nitrógeno (A), fósforo (B), potasio (C), calcio (D), magnesio (E) de plantas de Chile (*Capsicum annuum*) pimiento Bell Pepper, por efecto de la inoculación de una cepa bacteriana promotora del crecimiento vegetal, un consorcio de hongos micorrízicos arbusculares (HMA), y dos concentraciones de solución nutritiva Steiner (50 y 100%), después de 145 días del trasplante. n = 6. Medias ± Error estándar. Letras idénticas sobre las barras en su correspondiente gráfica, son estadísticamente iguales (LSD,  $\alpha = 0.05$ ). Abreviaturas: BPCV= *Pseudomonas tolaasii*, 50% = Solución Steiner al 50%, 100%= Solución Steiner al 100%.

Los factores solución Steiner, BPCV y HMA, solas o en combinación mostraron diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0.05$ ) en el contenido foliar de potasio. Los valores más altos fueron observados en plantas con 100 % solución Steiner+BPCV+HMA, 50 y 100 % solución Steiner + HMA, cuyos valores promedio fueron de 1688, 1684 y 1548 mg por planta, respectivamente (Figura 6.2C). El contenido más bajo de potasio ( $978 \text{ mg planta}^{-1}$ ) fue encontrado en el tratamiento control sin HMA suplementado con 50 % de solución Steiner.

El contenido de calcio en el tejido vegetal tuvo un comportamiento similar al contenido de potasio, los valores fluctuaron entre 323 a  $710 \text{ mg planta}^{-1}$ ; el tratamiento control (50 % solución Steiner, sin HMA) presentó el valor más bajo, y el tratamiento con 100 % solución Steiner+BPCV+HMA mostró el valor significativamente más alto, en comparación con el resto demás tratamientos (Figura 6.2D).

Con respecto a los factores solución Steiner, BPCV y HMA en el contenido de magnesio mostraron comportamientos similares en algunos tratamientos. Los valores fluctuaron entre 224 y  $341 \text{ mg de magnesio por planta}$ ; el mejor tratamiento con 50 % de solución Steiner+HMA, pero estadísticamente similar, a los tratamientos con 100 % solución Steiner + HMA y 100 % solución Steiner + BPCV + HMA, los cuales presentaron  $337$  y  $323 \text{ mg Mg planta}^{-1}$ , respectivamente (Figura 6.2E)

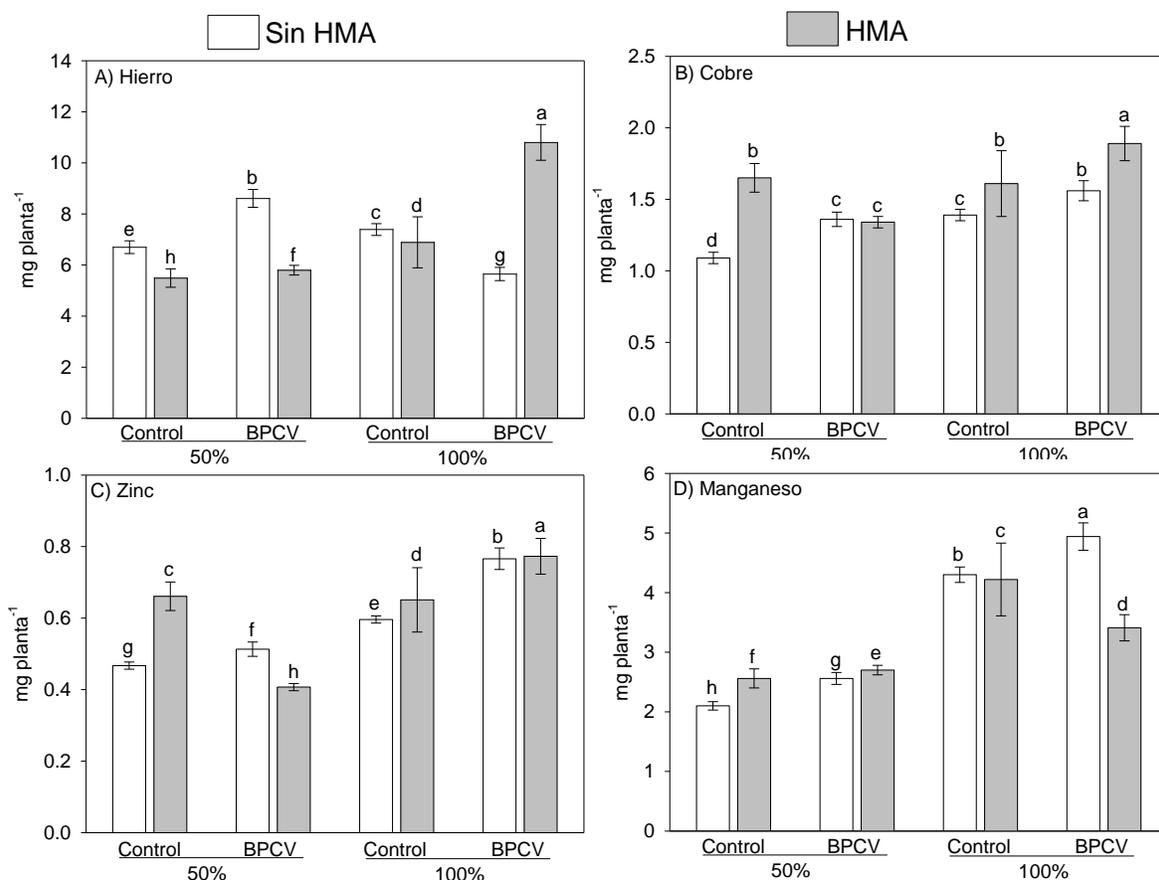
Los microelementos evaluados en tejido vegetal (hierro, cobre, zinc y manganeso) fueron afectados por los tres factores evaluados (solución Steiner, BPCV y HMA) (Figura 6.3). El contenido de hierro fue en promedio de 5.5 a  $10.8 \text{ mg por planta}$ ; el mejor tratamiento correspondió a las plantas inoculadas con BPCV y HMA en combinación con

100 % de solución Steiner, y en contraste el tratamiento control con 50 % solución Steiner+HMA mostró el menor contenido de este elemento (Figura 6.3A).

El contenido de cobre en el tejido vegetal fue influenciado por los microorganismos inoculados y por el suministro de la solución Steiner lo que se refleja en las diferencias significativas existentes entre cada tratamientos ( $P \leq 0.05$ ) (Figura 6.3B). El mayor contenido se obtuvo en el tratamiento con 100 % solución Steiner+BPCV+HMA con  $1.9 \text{ mg Cu planta}^{-1}$ , mientras que el tratamiento control (sin HMA + 50 % solución Steiner) obtuvo el valor más bajo ( $1.1 \text{ mg planta}^{-1}$ ).

Las plantas con 100 % de solución Steiner más la inoculación de los microorganismos benéficos (BPCV y HMA) permitieron mayor acumulación de zinc ( $0.773 \text{ mg planta}^{-1}$ ), seguido del tratamiento 100 % solución Steiner + BPCV ( $0.766 \text{ mg planta}^{-1}$ ), los cuales presentaron diferencias estadísticas ( $P \leq 0.05$ ) con y los demás tratamientos (Figura 6.3C). La menor concentración de este elemento ( $0.407 \text{ mg planta}^{-1}$ ) fue obtenido en las plantas con 50 % de solución Steiner+BPCV+HMA (Figura 6.3C).

El contenido de manganeso mostró diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) por efecto de la solución Steiner, BPCV y HMA. Los valores fluctuaron entre  $2.1$  y  $4.9 \text{ mg planta}^{-1}$ ; el contenido más alto se obtuvo en plantas tratadas con 100 % solución Steiner + BPCV, y el más bajo en el tratamiento control influenciado con 50 % de solución Steiner sin microorganismos (Figura 6.3D). En general, la aplicación de la solución Steiner al 100% produjo mayor acumulación de este micronutriente respecto a la concentración al 50 %.

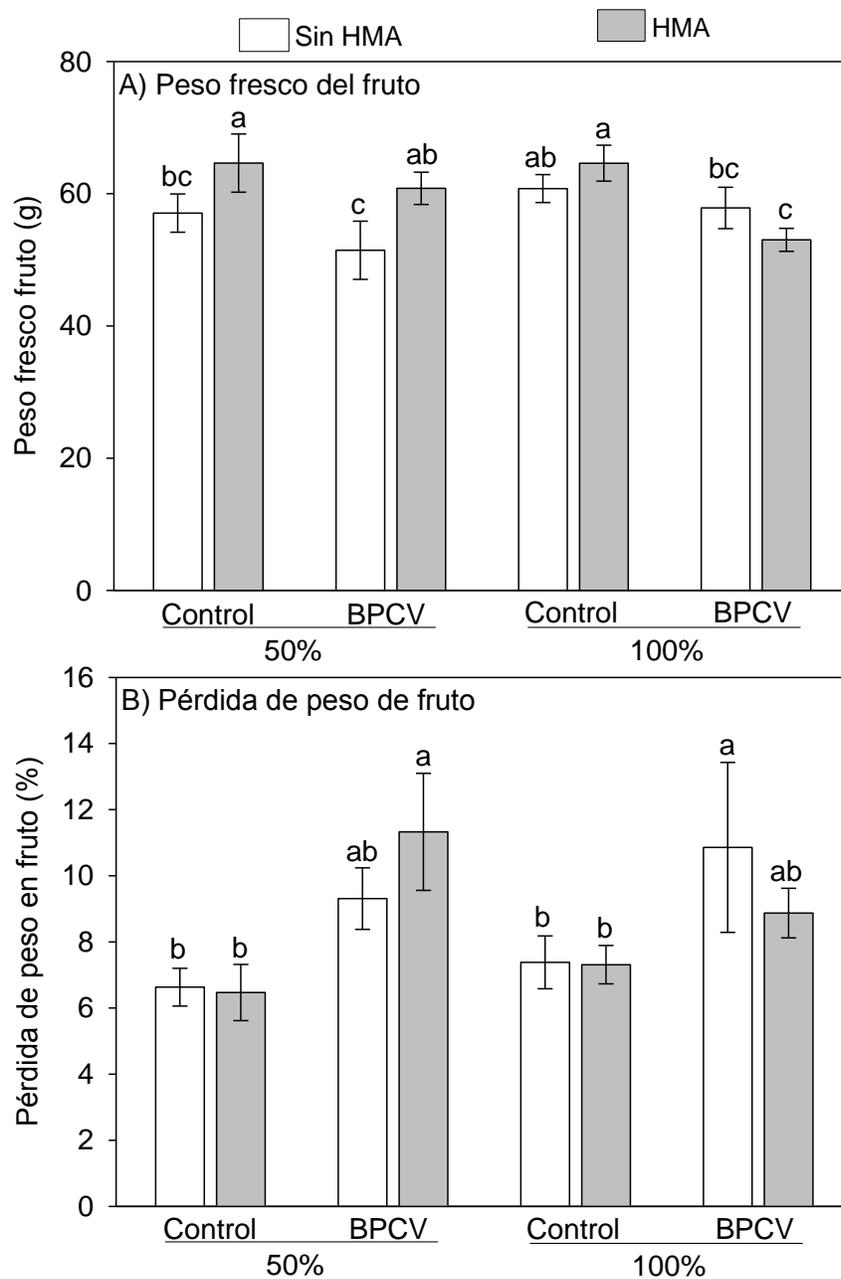


**Figura 6.3.** Contenido de hierro (A), cobre (B), zinc (C), manganeso (D), de plantas de chile (*Capsicum annuum*) pimiento Bell Pepper, por efecto de la inoculación de una cepa bacteriana promotora del crecimiento vegetal, un consorcio de hongos micorrízicos arbusculares (HMA), y dos concentraciones de solución nutritiva Steiner (50 y 100%), después de 145 días del trasplante. n = 6. Medias ± Error estándar. Letras idénticas sobre las barras en su correspondiente gráfica, son estadísticamente iguales (LSD,  $\alpha = 0.05$ ). Abreviaturas: BPCV= *Pseudomonas tolaasii*, 50% = Solución Steiner al 50%, 100%= Solución Steiner al 100%.

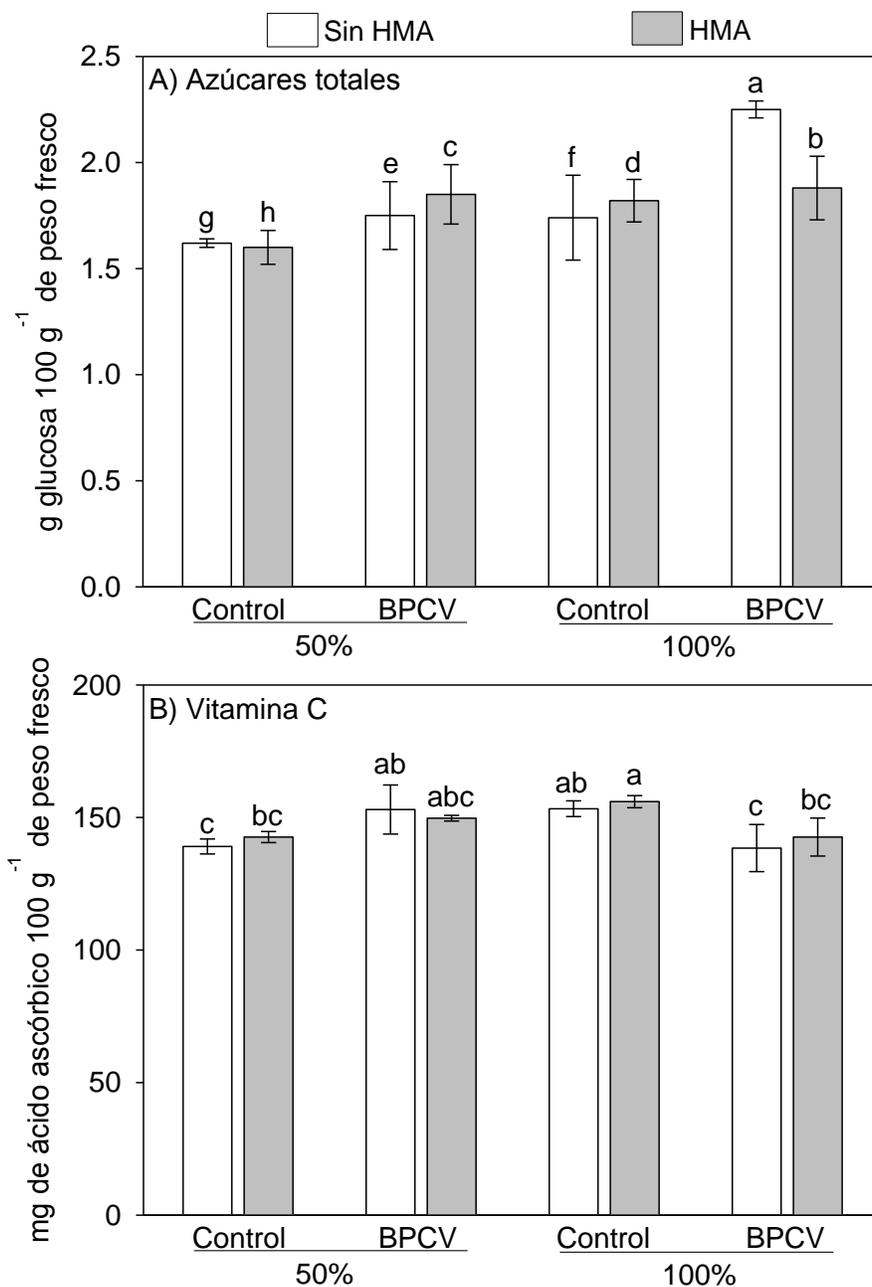
Las plantas con HMA en combinación con 50 o 100 % de solución Steiner acumularon mayor peso fresco de fruto, ambos con 64 g en promedio, mostrando diferencias significativas con los demás tratamientos (Figura 6.4A); el menor peso del fruto se obtuvo al inocular BPCV+50 % de solución Steiner, y cuando se inocularon ambos microorganismos (BPCV+HMA) en combinación con 100 % de solución Steiner, cuyos valores fueron de 51 y 53 g planta<sup>-1</sup>, respectivamente.

El mayor porcentaje de pérdida de peso en fruto se observó en plantas tratadas con 50% de solución Steiner+BPCV+HMA y 100% de solución Steiner+BPCV (sin HMA), siendo estadísticamente ( $P \leq 0.05$ ) iguales con 11.3 y 10.8 % de peso perdido; estos tratamientos fueron estadísticamente ( $P \leq 0.05$ ) diferentes a los tratamientos 50% solución Steiner+HMA y sin HMA, así como, a los tratamientos con 100% solución Steiner+HMA y sin HMA (Figura 6.4B).

Los tratamientos inoculados por los microorganismos (BPCV y HMA) y la solución nutritiva presentaron diferencias estadísticas significativas en el contenido de azúcares totales en los frutos frescos ( $P \leq 0.05$ ). Los valores fluctuaron entre 1.6 a 2.3 g de glucosa por cada 100 g de peso fresco; el tratamiento con 100 % de solución Steiner+BPCV (sin HMA) tuvo el mayor contenido de azúcares (Figura 6.5A). El contenido de vitamina C en 100 g de peso fresco, fue mejor en los tratamientos con 50% de solución Steiner+BPCV (sin HMA), 100% de solución Steiner+sin BPCV+sin HMA y 100% de solución Steiner+HMA (sin BPCV), siendo estadísticamente ( $P \leq 0.05$ ) iguales; estos tratamientos fueron diferentes estadísticamente respecto a los tratamientos con 50 y 100% de solución Steiner (sin HMA y sin (BPCV) (Figura 6.5C).



**Figura 6.4.** Peso fresco del fruto (A), pérdida de peso del fruto (B), ) de plantas de chile (*Capsicum annuum*) pimienta Bell Pepper, por efecto de la inoculación de una cepa bacteriana promotora del crecimiento vegetal, un consorcio de hongos micorrízicos arbusculares (HMA), y dos concentraciones de solución nutritiva Steiner (50 y 100%), después de 145 días del trasplante. n = 6. Medias ± Error estándar. Letras idénticas sobre las barras en su correspondiente gráfica, son estadísticamente iguales (LSD,  $\alpha = 0.05$ ). Abreviaturas: BPCV= *Pseudomonas tolaasii*, 50% = Solución Steiner al 50%, 100%= Solución Steiner al 100%.



**Figura 6.5.** Azúcares totales en frutos (A), vitamina C en frutos (B), de plantas de Chile (*Capsicum annuum*) pimiento Bell Pepper, por efecto de la inoculación de una cepa bacteriana promotora del crecimiento vegetal, un consorcio de hongos micorrízicos arbusculares (HMA), y dos concentraciones de solución nutritiva Steiner (50 y 100%), después de 145 días del trasplante. n = 6. Medias ± Error estándar. Letras idénticas sobre las barras en su correspondiente gráfica, son estadísticamente iguales (LSD,  $\alpha = 0.05$ ). Abreviaturas: BPCV= *Pseudomonas tolaasii*, 50% = Solución Steiner al 50%, 100%= Solución Steiner al 100%.

Los valores de Fv/Fo fueron estadísticamente mayores ( $P \leq 0.05$ ) en los tratamientos con el nivel de fertilización al 100% (3.3), respecto a los tratamientos tratados con solución Steiner al 50% (3.0). En particular, el tratamiento BPCV+HMA al 100% de fertilización, fue estadísticamente mayor al tratamiento sin BPCV+sin HMA al 50% de fertilización (Cuadro 6.2). El nivel 100% en el factor fertilización fue estadísticamente ( $P \leq 0.05$ ) mayor en unidades SPAD (63.8) con respecto al 50% de fertilización (62.0). El tratamiento sin BPCV+sin HMA al 50%, fue estadísticamente ( $P \leq 0.05$ ) menor al tratamiento BPCV+HMA al 100% de fertilización (Cuadro 6.2).

El tratamiento BPCV+sin HMA al 50% de fertilización mostró mayor sólidos solubles totales ( $^{\circ}$ Brix) siendo estadísticamente ( $P \leq 0.05$ ) mayor al tratamiento sin BPCV+sin HMA al 50%. No se observó interacción significativa entre la inoculación bacteriana con HMA y fertilización para sólidos solubles totales ( $^{\circ}$ Brix) (Cuadro 6.3).

El factor inoculación bacteriana incrementó significativamente ( $P \leq 0.05$ ) la acidez en frutos de pimiento bell pepper, respecto al nivel sin BPCV. Solo se observó diferencia estadística entre los tratamientos BPCV+sin HMA al 50% y sin BPCV+sin HMA al 100% siendo este menor estadísticamente ( $P \leq 0.05$ ) (Cuadro 6.3).

En el caso de firmeza de fruto no se observó diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ) entre ninguno de sus tratamientos (Cuadro 6.3).

**Cuadro 6.2.** Fv/Fo y unidades SPAD, en plantas de pimiento Bell Pepper (*Capsicum annuum*) inoculadas con HMA y BPCV, irrigadas con dos concentraciones de solución de Steiner, a los 140 días después del trasplante.

Régimen de fertilización solución Steiner (%)	Inoculación bacteriana	Condición micorrízica	FV/FO	Unidades SPAD
50	Sin	Sin hongo	2.78±0.12b	60.76± 0.44b
		HMA	3.16± 0.13ab	62.13±0.50ab
	BPCV	Sin hongo	3.21±0.18a	61.88± 1.45ab
		HMA	3.14±0.12ab	63.50±1.71ab
100	Sin	Sin hongo	3.32±0.18a	62.65± 0.25ab
		HMA	3.16±0.12ab	64.26±0.94a
	BPCV	Sin hongo	3.34± 0.16a	63.98±1.51a
		HMA	3.41±0.09a	64.41± 0.41a
		DMS <sub>(LSD=0.05)</sub>	0.38	2.86
		C.V.	10.26	3.88
	Significancia	Fertilización	0.05	0.05
		BPCV	NS	NS
		HMA	NS	NS
		Fert*BPCV	NS	NS
		Fert*HMA	NS	NS
BPCV*HMA		NS	NS	
Fert*BPCV*HMA		NS	NS	

HMA= *Funneliformis aff. geosporum* y *Claroideoglossum* sp.; BPCV= *Pseudomonas tolaasii*; DMS= Diferencia mínima significativa; NS= No significativo; CV= Coeficiente de variación.

Se observó diferencia significativa entre los niveles del factor condición micorrízica siendo HMA, estadísticamente ( $P \leq 0.05$ ) menor que sin HMA para la variable pH. El tratamiento con mayor valor de pH fue sin BPCV+sin HMA al 100% de fertilización, siendo igual a los tratamientos sin BPCV+sin HMA al 50% y BPCV+HMA al 100% de fertilización pero significativamente ( $P \leq 0.05$ ) mayor al resto de los tratamientos (Cuadro 6.3).

El factor inoculación bacteriana en su nivel sin BPCV mostró significativamente ( $P \leq 0.05$ ) mayor ancho de fruto respecto a BPCV. Por otro lado, el factor condición micorrízica en su nivel HMA, fue estadísticamente ( $P \leq 0.05$ ) mayor respecto a sin HMA. También se observó diferencia estadística en la interacción BPCV\*HMA. El tratamiento sin BPCV+HMA 100% presentó mayores valores en ancho del fruto siendo estadísticamente ( $P \leq 0.05$ ) mayor a los tratamientos sin BPCV+sin HMA 50%, BPCV+sin HMA 50%, y BPCV+sin HMA al 100% de fertilización (Cuadro 6.4).

En el caso de longitud de fruto, no se observó diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ) entre ninguno de sus tratamientos (Cuadro 6.4). La colonización micorrízica no mostró diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ). No se observaron vesículas y arbuscúlos en ningún tratamiento (Cuadro 6.5).

**Cuadro 6.3.** °Brix, Fv/Fo, acidez, firmeza y pH en frutos en plantas de pimiento Bell Pepper (*Capsicum annuum*) inoculadas con HMA y BPCV, irrigadas con dos concentraciones de solución de Steiner, a los 140 días después del trasplante.

Régimen de fertilización solución Steiner (%)	Inoculación bacteriana	Condición micorrízica	°Brix	Acidez (% ácido cítrico)	Firmeza (N)	pH	
50	Sin	Sin hongo	5.72±0.11b	0.33±0.01ab	42.58±1.43a	5.42±0.04ab	
		HMA	5.91±0.36ab	0.33±0.01ab	40.71±1.82a	5.35±0.01bc	
	BPCV	Sin hongo	6.72±0.23a	0.41±0.04a	38.57±2.06a	5.34±0.03c	
		HMA	6.17±0.41ab	0.33±0.03ab	40.74±2.32a	5.36±0.01bc	
100	Sin	Sin hongo	6.43±0.50ab	0.31±0.03b	45.80±1.23a	5.47±0.02a	
		HMA	6.45±0.27ab	0.35±0.03ab	38.41±4.56a	5.40±0.05abc	
	BPCV	Sin hongo	6.48±0.28ab	0.39±0.03ab	38.38±1.28a	5.37±0.04bc	
		HMA	6.32±0.08ab	0.36±0.00ab	42.04±5.12a	5.45±0.04a	
	Significancia		DMS <sub>(LSD=0.05)</sub>	0.96	0.08	9.8	0.09
			C.V.	8.34	13.34	12.98	0.92
			Fertilización	NS	NS	NS	NS
			BPCV	NS	0.05	NS	NS
			HMA	NS	NS	NS	0.01
			Fert*BPCV	NS	NS	NS	NS
			Fert*HMA	NS	NS	NS	NS
			BPCV*HMA	NS	NS	NS	NS
			Fert*BPCV*HMA	NS	NS	NS	NS

HMA= *Funneliformis aff. geosporum* y *Claroideoglossum* sp.; BPCV= *Pseudomonas tolaasii*; DMS= Diferencia mínima significativa; NS= No significativo; CV= Coeficiente de variación.

**Cuadro 6.4.** Ancho y longitud de frutos, en plantas de pimiento Bell Pepper (*Capsicum annuum*) inoculadas con HMA y BPCV, irrigadas con dos concentraciones de solución de Steiner, a los 140 días después del trasplante.

Régimen de fertilización solución Steiner (%)	Inoculación bacteriana	Condición micorrízica	Ancho de fruto (mm)	Longitud de fruto (mm)	
50	Sin	Sin hongo	47.80±6.12cd	50.80±2.13a	
		HMA	63.26±6.85ab	49.68±2.27a	
	BPCV	Sin hongo	43.58±4.60d	56.34±3.21a	
		HMA	62.30±6.18abc	54.69±3.67a	
100	Sin	Sin hongo	62.14±3.24abc	54.05±3.50a	
		HMA	68.04± 6.36a	54.38±4.21a	
	BPCV	Sin hongo	54.74±10.14abcd	50.72±4.88a	
		HMA	49.96±2.49bcd	51.03±1.95a	
	Significancia		DMS <sub>(LSD=0.05)</sub>	6.61	10.48
			C.V.	8.64	15.26
			Fertilización	NS	NS
			BPCV	0.001	NS
			HMA	0.05	NS
			Fert*BPCV	NS	NS
			Fert*HMA	0.01	NS
			BPCV*HMA	NS	NS
			Fert*BPCV*HMA	NS	NS

HMA= *Funneliformis aff. geosporum* y *Claroideoglossum* sp.; BPCV= *Pseudomonas tolaasii*; DMS= Diferencia mínima significativa; NS= No significativo; CV= Coeficiente de variación.

**Cuadro 6.5.** Colonización micorrízica (total, arbusculos y vesículas) en raíces de plantas de pimiento Bell Pepper (*Capsicum annuum*), inoculadas con hongos micorrizicos arbusculares y bacterias promotoras del crecimiento vegetal, a los 140 días después del trasplante.

Régimen de fertilización solución Steiner (%)	Inoculación bacteriana	Condición micorrízica	Colonización micorrízica (%)		
			Total	Arbusculos	Vesículas
50	Sin	HMA	11.46±0.43a	0	0
	BPCV	HMA	11.3±1.15a	0	0
100	Sin	HMA	10.13±0.72a	0	0
	BPCV	HMA	9.76±0.66a	0	0
		DMS <sub>(LSD=0.05)</sub>	2.73		
		C.V.	12.23		
	Significancia	Fertilización	NS		
		BPCV	NS		
		Fert*BPCV	NS		

\*No se encontró colonización micorrízica en los tratamientos que no fueron inoculados con el consorcio micorrízico. HMA= Consorcio de hongos micorrizicos arbusculares (HMA) conformado por *Funneliformis aff. geosporum* y *Claroideoglosum spp.*, BPCV= *Pseudomonas tolaasii*. Medias con la misma letra en la misma columnas son estadísticamente iguales (LSD,  $\alpha = 0.05$ ).

#### 6.4. DISCUSION

Los parámetros de crecimiento evaluados en este estudio (altura, diámetro de tallo, área foliar, número de hojas y producción de biomasa seca, radical, aérea y total) fueron favorecidos por la inoculación de *Pseudomonas tolaasii* y el consorcio micorrízico (*Funneliformis geosporum* + *Claroideoglosum spp.*) sean solos o en combinación, respecto a las plantas no inoculadas. El efecto más significativo fue obtenido en los tratamientos micorrizados, destacando el tratamiento con 100 % solución Steiner+BPCV+HMA. La interacción sinérgica de las BPCV y los HMA en cultivos de *Capsicum annuum* ha sido ampliamente documentado, y la mayoría de las investigaciones coinciden en los beneficios que éstos traen a sus hospedantes mejorando la altura, el desarrollo radical, el área foliar y número de hojas, así como la mayor acumulación de biomasa (Artursson *et al.*, 2006; Kim

*et al.*, 2010; Padmavathi *et al.*, 2015; Padmavathi *et al.*, 2016). Otros autores han demostrado que el uso de HMA en cultivares de chile también mejoran los parámetros de crecimiento estudio (Castillo *et al.*, 2009; Rueda-Puente *et al.*, 2010; Cekic *et al.*, 2012; Boonlue *et al.*, 2012), coincidiendo con la tendencia observada en el presente trabajo.

Específicamente, en cultivos de Bell Pepper se han inoculado especies como *Glomus mosseae*, *G. claroideum*, *G. geosporum*, y *G. etunicatum* (Douds *et al.*, 2012), *Glomus aggregatum*, *G. intraradices* y *G. mosseae* combinadas con *Sinorhizobium meliloti* y *S. leguminosarum* (Russo, 2006), *G. intraradices* con *Acinetobacter junii* (Padmavathi *et al.*, 2015) y *Rhizophagus intraradices*, *R. fasciculatum* combinados con *Burkholderia seminalis* (Padmavathi *et al.*, 2016), los resultados generales que se describen en dichos estudios demuestran incrementos en los parámetros de crecimiento como altura, biomasa seca, elongación radical y producción de frutos. Por otra parte los trabajos realizados con *Pseudomonas* han demostrado mejoras en el desarrollo de las plantas debido a la capacidad de estas bacterias para producir ácido indolacético y solubilizar fosfato (Patten y Glick, 2002).

Todos las plantas tratadas con las BPCV y los HMA permitieron mayor acumulación de los elementos minerales comparado con los tratamientos testigos, este efecto fue más notorio en los tratamientos inoculados con HMA. Al respecto, Perner *et al.* (2007) mencionan que los HMA permiten mayor absorción de nutrimentos principalmente fósforo, nitrógeno y potasio, pero se han encontrado evidencias de su efecto en los elementos menores como zinc, cobre, hierro, azufre, calcio, magnesio y boro (Altomare y Tringovska, 2011). El mayor contenido de nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio, hierro, cobre, zinc y manganeso encontrados en el presente trabajo, por efecto de las BPCV y de HMA

podría estar relacionado con los diversos beneficios que estos microorganismos proporcionan. Por ejemplo los HMA colonizan las raíces mediante su micelio y se extienden ampliamente permitiendo mayor captación de agua y nutrientes (Giri y Mukerji, 2004). Otros estudios han reportado que la combinación de HMA y BPCV permiten mayor absorción de fósforo, potasio y zinc (Kim *et al.*, 2010; Yu *et al.*, 2012; Ashrafi *et al.*, 2014), así como de nitrógeno, magnesio y calcio (Lee *et al.*, 2015).

En este trabajo, los incrementos en el contenido de nitrógeno y fósforo fueron de 1.5 y 2.1 veces, respectivamente en plantas inoculadas, respecto a los controles. En un estudio similar realizado por Tanwar y Aggarwal (2014), al inocular HMA (*Funneliformis mosseae*, *Acaulospora laevis*) y BPCV (*Pseudomonas fluorescens*) en pimiento Bell pepper encontraron mayor contenido foliar de fósforo (0.16-0.25 %) y nitrógeno (1.84-3.06 %), mostrando incrementos de hasta 2.1 veces más en fósforo, y hasta 2.5 veces más en nitrógeno en comparación con el testigo (0.12 % P y 1.24 % N). Padmavathi *et al.* (2015), al inocular *G. intraradices* y *Acinetobacter junii* en plantas de Bell Pepper encontraron mayor contenido de fosfato (2.2 mg mL<sup>-1</sup>) con respecto a las plantas no inoculadas (1.0 mg mL<sup>-1</sup> fosfato).

El número de frutos por planta, así como el peso de los mismos, fueron favorecidos por la inoculación de HMA en combinación con las dos dosis de la solución nutritiva. Diversos autores coinciden en que la inoculación de BPCV y HMA permiten mayor producción y calidad de frutos (Mena-Violante *et al.*, 2006; Kaya *et al.*, 2009; Tanwar y Aggarwal, 2014). El uso de microorganismos benéficos como los utilizados en este estudio, contribuye a la agricultura sostenible, produciendo frutos de buena calidad. El contenido de vitamina C fue favorecido por los microorganismos utilizados, siendo más benéfico la inoculación de

HMA y su combinación con la rizobacteria (145.0 mg de ácido ascórbico 100 g<sup>-1</sup> de peso fresco). Este valor fue más alto respecto a los obtenidos por Russo y Perkins-Veazie (2010), quienes al inocular rizobacterias (*Sinorhizobium meliloti* y *S. leguminosarum*) y HMA (*Glomus aggregatum*, *G. intraradices* y *G. mosseae*) en Chile Bell pepper, cuya combinación favorecieron el contenido de vitamina C en fruto (hasta 141.5 mg 100 g<sup>-1</sup> de peso fresco). La inoculación de HMA por sí sola también tuvo efectos significativos y fue el que también incrementó el peso fresco del fruto respecto a las plantas no inoculadas.

Los sólidos solubles totales en frutos fueron influenciados por la inoculación de BPCV en comparación con los no inoculados con la bacteria al 50% de fertilización. Resultados similares observaron Ordookhani y Zare (2011) en frutos de tomate (*Lycopersicon esculentum*) inoculados con BPCV y HMA. Karakurt *et al.* (2011) mencionan que un mayor crecimiento vegetativo puede acelerar la actividad fotosintética, beneficiando la síntesis de compuestos orgánicos, como azúcares totales o sólidos solubles totales, lo cual se refleja en la calidad del fruto. Esto concuerda con Chelpinski *et al.* (2010), quienes demostraron que la aplicación de *Azotobacter* en plantas de fresa tuvo un impacto importante en algunas propiedades químicas de los frutos, tales como el contenido de sólidos solubles totales y azúcares totales.

En el ancho del fruto se observó un incremento en los tratamientos inoculados con HMA. Comportamientos similares observaron Díaz-Franco *et al.* (2013) en frutos de pimiento tratados con el HMA *Rhizophagus intraradices*. Este impacto que tuvo el HMA en la calidad de fruto, puede estar estrechamente relacionado con el mejoramiento de la nutrición de la planta favorecida por el mismo simbionte (Carpio *et al.*, 2005).

Otros atributos de calidad de fruto son la acidez titulable (por ciento de ácido cítrico), pH y firmeza de fruto. El pH se comporta de acuerdo a la variación en la acidez titulable, ya que aumenta cuando la acidez desciende y viceversa, lo cual ha sido reportado para algunos frutos (Tucker, 1993), y en general este comportamiento se observó en los frutos de pimiento Bell pepper. La disminución o aumento en pH de los frutos, se atribuye al menor o mayor contenido de ácidos orgánicos presentes en forma ionizada en el tejido vegetal (Salisbury y Ross, 1994). Aparte de su importancia bioquímica, los ácidos orgánicos contribuyen en gran parte al sabor, en una relación típica entre azúcares y ácidos en las diferentes especies de frutas (Wills *et al.*, 1998). La firmeza de los frutos es un indicador de calidad que está claramente relacionado con el tiempo de conservación de los alimentos, principalmente en frutas y hortalizas. Por esta razón, valores elevados de firmeza son deseables para productos que tienen que viajar largas distancias antes de llegar a sus consumidores (Urrestarazu *et al.*, 2002); en este caso la firmeza no fue afectada por ninguno de los tratamientos. Resultados similares observaron Palencia *et al.* (2015) en frutos de fresa inoculados con HMA y BPCV.

A través de la fluorescencia de la clorofila, se puede medir la eficiencia fotoquímica del fotosistema II (PSII), la cual es una técnica efectiva no invasiva para detectar daños en el aparato fotosintético de las plantas (Baker, 2008). La relación  $F_v/F_o$  (relación entre la fluorescencia variable y fluorescencia inicial) indica el potencial de la capacidad fotosintética del PSII (Zhang *et al.*, 2014). Este parámetro es el más sensible en el componente de la cadena fotosintética de transporte de electrones y una disminución en esta relación denota alteraciones fisiológicas (Pereira *et al.*, 2000).

Las lecturas bajas de  $F_v/F_o$  obtenidas en el tratamiento sin BPCV+sin HMA al 50% de fertilización con respecto a los tratamientos inoculados con BPCV, HMA y su interacción,

así como los fertilizados al 100%, puede deberse a que la planta, al tener los nutrimentos disponibles, ésta no sufre de estrés y se refleja en lecturas altas de Fv/Fo (Moreno *et al.*, 2008). El incremento de la eficiencia fotoquímica del fotosistema II (PSII) está relacionado con la promoción del crecimiento en plantas de Chile, principalmente por la inoculación de BPCV y HMA, respecto a las no inoculadas con BPCV y HMA con la fertilización al 50%, indicando un beneficio en el PSII de las plantas (Zubek *et al.*, 2009). Por otro lado, algunos estudios demuestran que los HMA estimulan la actividad fotosintética en la planta (Goicoechea *et al.*, 2014; Elhindi *et al.*, 2017) y mitigan el estrés de las plantas por factores de estrés abióticos tales como sequía, niveles excesivos de elementos tóxicos, salinidad y desequilibrios por deficiencias de nutrientes (Ortas, 2003; Zhao *et al.*, 2015; Rouphael *et al.*, 2015).

La medición de unidades SPAD proporciona un método sencillo, rápido y no destructivo para estimar el contenido de clorofila en la hoja (Xiong *et al.*, 2015). Además, esta medición es extremadamente versátil para la determinación rápida de nitrógeno en hoja, siempre y cuando se aplique una adecuada ecuación de calibración (Uddling *et al.*, 2007). El tratamiento sin BPCV+sin HMA al 50% de fertilización mostró valores bajos de unidades SPAD, con respecto a los demás tratamientos. Lo anterior puede ser atribuido a la capacidad que tienen los HMA para absorber mayor cantidad de fósforo y nitrógeno. Koide y Kabir (2000) mencionan que los HMA por medio de sus hifas y la secreción de fosfatasa extracelulares son capaces de capturar, transportar y solubilizar los elementos nutritivos poco disponibles en el suelo. Lo anterior hace que los HMA puedan tomar nutrientes del sustrato, además de aquellos aportados con la solución nutritiva, para después hacerlos disponibles para la planta, lo que se ve reflejado en mayores lecturas de unidades SPAD. En este sentido, Camen *et al.* (2010) observaron una relación positiva entre el contenido de

clorofila y el porcentaje de colonización micorrízica en plantas de lechuga. Además, el aumento en el contenido de clorofila con la inoculación de HMA ha sido previamente reportado por Boby *et al.* (2008), Alarcón *et al.* (2002) y Feng *et al.* (2002). Así mismo, Kumar *et al.* (2012) indicaron que las cepas bacterianas P10 y P13 (*Pseudomonas fluorescens*) al ser inoculadas conjuntamente con HMA incrementaron el contenido de clorofila en plantas de sorgo.

La colonización micorrízica fue baja en todos los tratamientos inoculados con HMA; sin embargo, la respuesta de las plantas a estos hongos fue favorable al aumentar el número de hojas, el área foliar, el peso fresco del fruto, el peso seco de la planta, ancho de fruto, así como, la absorción de macro y microelementos. Aunque el porcentaje de colonización micorrízica total haya sido bajo en los tratamientos con HMA, esto no limitó el beneficio de los HMA en las plantas. Lo anterior indica que el grado de colonización micorrízica, no siempre es un indicador claro de los beneficios potenciales que los HMA pueden aportar a su hospedante (Alarcón y Ferrera-Cerrato, 1999; Hess *et al.*, 2005).

## **6.5. CONCLUSIONES**

El consorcio de HMA incrementó la absorción de micro y macro elementos en la planta de chile Bell Pepper con y sin la presencia de BPCV; de igual forma produjo incrementos en, el área foliar, el número de hojas y el peso seco total, en comparación con el control sin inocular. El efecto de las BPCV por sí solas, benefició la absorción de fósforo; sin embargo, los mejores resultados en la mayoría de las variables se observaron cuando HMA y BPCV se inocularon conjuntamente respecto al control.

La fertilización al 100% benefició a la mayoría de las variables agronómicas estudiadas. El mejor tratamiento que contribuyó en la promoción del crecimiento de las plantas fue

BPCV+HMA con solución Steiner al 100%. En lo que respecta a la calidad de fruto, se observaron beneficios en azúcares totales, de sólidos solubles totales, y en el peso fresco del fruto, al inocular HMA y BPCV, independientemente del porcentaje de solución Steiner aplicado.

El potencial biotecnológico de HMA (*Funneliformis aff. geosporum* y *Claroideoglosum* sp.) y BPCV (*Pseudomonas tolaasii*) puede ser utilizado para reforzar el desarrollo de plantas de Chile Bell Pepper en invernadero, incrementando la absorción de macro y micro elementos e inducir mayor vigor, mayor producción y mejor calidad de frutos.

## CAPÍTULO VII.

### DISCUSIÓN GENERAL DE RESULTADOS Y CONCLUSIONES GENERALES

El uso de BPCV y HMA proporciona beneficios a los cultivos hortícolas, sin embargo no todas las cepas de BPCV y HMA responden igual a los diferentes ambientes y cultivos. De igual manera la compatibilidad entre diferentes HMA y BPCV debe de ser estudiada para tener éxito en la inoculación de las plantas con estos microorganismos. Por tal razón, la presente investigación evaluó el efecto de cinco cepas bacterianas y tres consorcios de HMA en el crecimiento y desarrollo de plantas de pimiento Bell Pepper en sistema hidropónico crecido en condiciones de invernadero.

Las cepas bacterianas que mostraron mayor efecto a nivel de semillero en altura de planta, área foliar, diámetro de tallo y volumen radical, con respecto al testigo sin fertilizar en ambos cultivares de chile, fueron P61 (*Pseudomonas tolaasii*) y R44 (*Bacillus pumilus*) (capítulo IV). Estos beneficios se atribuyen a los mecanismos que tienen estas bacterias para promover el crecimiento de las plantas, y que están relacionados con la producción de sideróforos, la solubilización de fósforo, y síntesis de índoles. Por su parte, los HMA más efectivos en altura de planta, diámetro de tallo y peso seco de la planta, correspondieron a las cepas H1 (*Funneliformis aff. geosporum* y *Claroideoglossum* sp.) y H3 (*Rhizophagus fasciculatus*, *Glomus* sp., y *Archaeospora* sp). Esto puede ser atribuido a una mayor absorción de nutrimentos como el fósforo y el nitrógeno, entre otros, por la red de hifas de los HMA.

La interacción entre BPCV y HMA que mostró mayor efecto en el crecimiento de plántulas a nivel de semillero (altura de planta, peso seco total y peso seco aéreo), correspondió al tratamiento R44+HMA; sin embargo, la cepa P61, por si sola, mostró mayor efecto en la mayoría de las variables en comparación con el resto de los

tratamientos, y particularmente con el control. Este efecto positivo de la inoculación dual de BPCV y HMA puede deberse a la combinación de ciertos mecanismos utilizados por ambos grupos microbianos para promover el crecimiento vegetal (capítulo V).

Los parámetros de crecimiento evaluados (altura, diámetro de tallo, área foliar, número de hojas y biomasa seca) en plantas de pimiento Bell Pepper inoculados con BPCV y HMA con dos concentraciones de solución nutritiva, en sistema hidropónico (capítulo VI) fueron favorecidos con la inoculación de *Pseudomonas tolaasii* y el consorcio micorrízico (*Funneliformis geosporum* + *Claroideoglossum* spp.), solos o en combinación, respecto a las plantas no inoculadas. El efecto más significativo fue obtenido en los tratamientos micorrizados, siendo mejor el tratamiento con 100% solución Steiner+BPCV+HMA. Lo anterior demuestra que el uso de HMA mejora el parámetro crecimiento de chile Bell Pepper.

El mayor contenido foliar de nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio, hierro, cobre, zinc y manganeso por efectos de BPCV o HMA podrían estar relacionado con los diversos beneficios que estos microorganismos proporcionan. Por ejemplo, los HMA colonizan las raíces y su micelio se extiende ampliamente permitiendo mayor captación de agua y nutrimentos. Por otra parte, las BPCV producen auxinas y solubilizan fosfato permitiendo a la planta mayor acumulación de nutrimentos.

El incremento de la eficiencia fotoquímica del fotosistema II (PSII), representado con el parámetro  $F_v/F_o$ , está relacionado con la promoción del crecimiento de chile jalapeño y Bell Pepper a nivel de semillero, principalmente por el efecto de la inoculación de las cepas P61, R44 y BSP1.1 con respecto al testigo absoluto (capítulo IV).

Las plantas inoculadas con HMA, excepto en el tratamiento R44+HMA, mostraron valores superiores de  $F_v/F_o$  con respecto a las plantas inoculadas únicamente con BPCV y

del control sin inocular. Esto puede deberse a que los HMA tienen la capacidad de acelerar la actividad fotosintética en las plantas, así como, mitigar el impacto de factores de estrés abióticos.

Las lecturas bajas de Fv/Fo observadas en el tratamiento sin BPCV+sin HMA al 50% de fertilización, con respecto a los tratamientos inoculados con BPCV, HMA y su interacción, así como los fertilizados al 100%, pueden deberse a que la planta, al tener todos los nutrimentos en forma proporcional no sufre de estrés y se refleja en lecturas altas de Fv/Fo. Por otro lado, algunos estudios demuestran que los HMA aceleran la actividad fotosintética en la planta hospedera, lo que se refleja en lecturas altas de Fv/Fo (capítulo VI).

Todos los tratamientos inoculados con HMA mostraron valores altos de unidades SPAD con respecto a los tratamientos inoculados solamente con bacterias y al testigo sin inocular. Lo anterior puede ser atribuido a la capacidad que tienen los HMA para absorber mayor cantidad de fósforo y nitrógeno. Los HMA puedan tomar nutrientes del sustrato, además de aquellos aportados con la solución nutritiva, para después disponerlos a la planta, lo que se ve reflejado en mayores lecturas de unidades SPAD. Por otra parte, las lecturas bajas de unidades SPAD en los tratamientos inoculados solamente con BPCV, es atribuido a que las cepas bacterianas utilizadas en este experimento no tienen la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico, por lo que, la deficiencia de nitrógeno en la planta se manifiesta con clorosis en las hojas, reflejándose en lecturas bajas de unidades SPAD.

Respecto a calidad de fruto, el contenido de vitamina C, los sólidos solubles totales y los azúcares totales, fueron favorecidos por la inoculación de los microorganismos. La combinación de HMA+BPCV fue el tratamiento con mayor efecto. En consecuencia, un mayor crecimiento vegetativo favorecido por HMA y BPCV puede acelerar la actividad de

fotosíntesis, beneficiando la síntesis de compuestos orgánicos, como azúcares totales, sólidos solubles totales que se refleja en la calidad del fruto (capítulo VI).

La colonización micorrízica fue baja en todos los tratamientos inoculados con HMA; sin embargo, la respuesta de las plantas a los HMA fue favorable en el número de hojas, área foliar, peso fresco del fruto, peso seco total, peso seco aéreo, ancho de fruto, así como, en la absorción de macro y microelementos. Aun cuando el porcentaje de colonización micorrízica total fue bajo en los tratamientos con HMA, esto no se reflejó en limitaciones del beneficio de los HMA en las plantas.

Este trabajo demuestra que el uso de BPCV (especialmente P61) y de HMA (*Funneliformis aff. geosporum* y *Claroideoglopus* sp), tienen un papel importante en la absorción de macro y microelementos, en la promoción del crecimiento y desarrollo de plantas de Chile Pimiento Bell Pepper, así como en la calidad de fruto. Además, esta investigación representa uno de los primeros reportes acerca de la influencia de los HMA (*Funneliformis aff. geosporum* y *Claroideoglopus* sp) y bacterias promotoras del crecimiento vegetal (*Pseudomonas tolaasii*) en la promoción del crecimiento de plantas de Chile Pimiento Bell Pepper (*Capsicum annuum*) en sistema hidropónico. No obstante, se requieren futuras investigaciones para la búsqueda de dosis óptimas de fertilización química compatibles con la actividad fisiológica de las BPCV y HMA en la productividad de plantas hortícolas, particularmente en plantas de Chile.

El uso de microorganismos benéficos HMA y BPCV hizo más eficiente el crecimiento y desarrollo del pimiento Bell Pepper, por lo que estos pueden ser utilizados como una biotecnología capaz hacer más eficiente el manejo y producción del Chile Pimiento Bell Pepper. Por lo que, se acepta la hipótesis general.

## CAPÍTULO VIII.

### LITERATURA CITADA

- A.O.A.C. 1999. Official methods of analysis. 16th. Ed. AOAC International. MD, USA. 1141 pp.
- A.O.A.C., 1980. Official methods of analysis. Association of official analytical chemists, Washington, USA.
- A.O.A.C., 1990. Official methods of analysis. Association of official analytical chemists, Washington, USA.
- A.O.A.C., 1997. Official methods of analysis. Association of official analytical chemists, Washington, USA.
- Adesemoye AO, Kloepper JW 2009 Plant–microbes interactions in enhanced fertilizer use efficiency. *Applied Microbiology and Biotechnology* 85:1-12.
- Adhikari TB, Joseph CM, Yang G, Phillips DA, Nelson LM. 2001. Evaluation of bacteria isolated from rice for plant growth promotion and biological control of seedling disease of rice. *Canadian Journal of Microbiology*. 47: 916-924.
- Adhya TK, Kumar N, Reddy G, Podile AR, Bee H, Samantaray B. 2015. Microbial mobilization of soil phosphorus and sustainable P management in agricultural soils. *Current Science*. 108: 1280-1287.
- Aghili F, Jansa J, Khoshgoftarmanesh AH, Afyuni M, Schulin R, Frossard E, Gamper HA. 2014. Wheat plants invest more in mycorrhizae and receive more benefits from them under adverse than favorable soil conditions. *Applied Soil Ecology*. 84: 93-111.
- Aguilar-Rincón VH, Corona-Torres T, López-Lopez, P, Latournerie-Moreno L, Ramirez-Meraz M, Villalón-Mendoza H, Aguilar-Castillo A. 2010. Los chiles de México y su distribución. SINAREFI, Colegio de Postgraduados, INIFAP, IT-Conkal, UANL, UAN. Montecillo, Texcoco, Estado de México. 114p.
- Aguirre-Medina JF, Kohashi-Shibata J. 2002. Dinámica de la colonización micorrízica y su efecto sobre los componentes del rendimiento y contenido de fósforo en frijol común. *Agricultura Técnica en México*. 28: 23-33.

- Ahemad M, Kibret, M. 2014. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria : Journal of King Saud University. 26: 1-20.
- Alarcón A, Davies FT, Egilla JN, Fox TC, Ferrera-cerrato R. 2002. Short term effects of *Glomus claroideum* and *Azospirillum brasilense* on growth and root acid phosphatase activity of *Carica papaya* L under phosphorus stress. Revista latinoamericana de microbiología. 44: 31-37.
- Alarcón A, Ferrera-Cerrato R. 1999. Manejo de la micorriza arbuscular en sistemas de propagación en plantas frutícolas. Terra Latinoamericana. 17: 179-191.
- Alarcón A, Hernández-Cuevas LV, Ferrera-Cerrato R, Franco-Ramírez A. 2012. Diversity and agricultural applications of arbuscular mycorrhizal fungi in. Journal of Biofertilizers & Biopesticides. 3: 1-10.
- Alejo-Iturvide F, Márquez-Lucio MA, Morales-Ramírez I, Vázquez-Garcidueñas MS, Olalde-Portugal V. 2008. Mycorrhizal protection of chili plants challenged by *Phytophthora capsici*. European Journal Plant Pathology 120: 13-20.
- Allen SE, Grimshaw HM, Parkinson JA, Quarmby C. 1997. Chemical analysis of ecological materials. Oxford, UK Blackwell. Scientific Publications.
- Altomare C, Tringovska I. 2011. Beneficial Soil Microorganisms, an Ecological Alternative for Soil Fertility Management. In: E. Lichtfouse (ed.), Genetics, Biofuels and Local Farming Systems. Sustainable Agriculture Reviews. 7: 161-214.
- Anith KN, Sreekumar A, Sreekumar J. 2015. The growth of tomato seedlings inoculated with co-cultivated *Piriformospora indica* and *Bacillus pumilus*. Symbiosis. 65: 9-16.
- Armada E, Azcon R, Lopez-Castillo OM, Calvo-Polanco M, Ruíz-Lozano JM. 2015. Autochthonous arbuscular mycorrhizal fungi and *Bacillus thuringiensis* from a degraded Mediterranean area can be used to improve physiological traits and performance of a plant of agronomic interest under drought conditions. Plant Physiology and Biochemistry. 90: 64–74.
- Armada E, Probanza A, Roldán A, Azcón, R. 2016. Native plant growth promoting bacteria *Bacillus thuringiensis* and mixed or individual mycorrhizal species improved drought

- tolerance and oxidative metabolism in *Lavandula dentata* plants. *Journal of Plant Physiology*. 192: 1-12.
- Artursson V, Finlay RD, Jansson JK. 2006. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria and their potential for stimulating plant growth. *Environmental Microbiology*. 8: 1-10.
- Ashrafi E, Zahedi M, Razmjoo F. 2014. Co-inoculations of arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobia under salinity in alfalfa. *Soil Science & Plant Nutrition*. 60: 619-629.
- Babalola OO. 2010. Beneficial bacteria of agricultural importance. *Biotechnology Letters*. 32: 1559-1570.
- Baker NR. 2008. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis *in vivo*. *Annual Review of Plant Biology*. 59: 89-113.
- Baker, NR. 2008. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis *in vivo*. *Annual Review of Plant Biology*. 59: 89-113.
- Barzana G, Aroca R, Paz JA, Chaumont F, Martinez-Ballesta MC, Carvajal M, Ruíz-Lozano JM. 2012. Arbuscular mycorrhizal symbiosis increases relative apoplastic water flow in roots of the host plant under both well-watered and drought stress conditions. *Annals of Botany*. 109: 1009-1017.
- Baslam M, Garmendia I, Goicoechea N .2013. Enhanced accumulation of vitamins, nutraceuticals and minerals in lettuces associated with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF): a question of interest for both vegetables and humans. *Review. Agriculture*. 3:188-209.
- Bazghaleh, N, Hamel C, Gan Y, Knight D. 2015. Genotype-specific variation in the structure of root fungal communities is related to chickpea plant productivity. *Applied and Environmental Microbiology*. 81: 2368-2377.
- Ben-Chaim, A, Borovsky Y, Falise M, Mazourek M, Kang BC, Paran I, Jahn M. 2006. QTL Analysis for capsaicinoid content in *Capsicum*. *Theoretical and Applied Genetics*. 113: 1481-1490.
- Beneduzi A, Peres D, Vargas LK, Bodanese-Zanettini MH, Passaglia LMP. 2008. Evaluation of genetic diversity and plant growth promoting activities of nitrogen-

- fixing bacilli isolated from rice fields in South Brazil. *Applied Soil Ecology*. 39: 311-320.
- Betts TA. 1999. pungency quantitation of hot pepper sauces using HPLC. *Chem. Education* 76: 240-244.
- Bhattarai SP, Salvaudon C, Midmore DJ. 2008. Oxygenation of the rockwool substrate for hydroponics. *Aquaponics Journal*. 49: 29-35.
- Bierman B, Linderman RG. 1983. Use of vesicular-arbuscular mycorrhizal roots, intraradical vesicles and extraradical vesicles as inoculum. *New Phytologist*. 95: 97-105.
- Boby VU, Balakrishna AN, Bagyaraj DJ. 2008. Interaction between *Glomus mosseae* and soil yeasts on growth and nutrition of cowpea. *Microbiological Research*. 163: 693-700.
- Bochow H, 1992. Phytosanitary effects of *Bacillus subtilis* as biocontrol agent. *Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen, Rijksuniversiteit Gent*. 57: 387-393.
- Böhm W. 1979. Root parameters and their measurement. *Methods of studying root systems*. Springer-Verlag. Berlin, Heidelberg. New York Press, pp. 125-138.
- Böhme M, 1999. Effects of lactate, humate and *Bacillus subtilis* on the growth of tomato plants in hydroponic systems. *Acta Horticulturae*. 481: 231-240.
- Boonlue S, Surapat W, Pukahuta C, Suwanarit P, Suwanarit A, Morinaga T. 2012. Diversity and efficiency of arbuscular mycorrhizal fungi in soils from organic chili (*Capsicum frutescens*) farms. *Mycoscience*. 53: 10-16.
- Boostani HR, Chorom M, Moezzi AA, Enayatzamir N. 2014. Mechanisms of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and mycorrhizae fungi to enhancement of plant growth under salinity stress: A review *International Journal of Biological Sciences*. 3: 98-107.

- Brutti L, Alvarado P, Rojas T, Martensson A. 2014. Tomato seedling development is improved by a substrate inoculated with a combination of rhizobacteria and fungi. *Soil & Plant Science*. 65: 170-176.
- Camen D, Beinşan C, Şumălan R, Pasc M. 2010. Research on the effect of arbuscular mycorrhizae on some physiological indices of lettuce – *Lactuca sativa* L. *Journal of Horticulture, Forestry and Biotechnology*. 14: 128-130.
- Cameron DD. 2010. Arbuscular mycorrhizal fungi as (agro) ecosystem engineers. *Plant Soil*. 333: 1-5.
- Cameron KC, Di HJ, Moir JL. 2013. Nitrogen losses from the soil/plant system: a review. *Annals of Applied Biology*. 162: 145-173.
- Carpio LA, Davies FT, Arnold MA. 2005. Arbuscular Mycorrhizal Fungi, Organic and Inorganic Controlled-release Fertilizers : Effect on Growth and Leachate of Container-grown Bush Morning Glory (*Ipomoea carnea* ssp. *fistulosa*) Under High Production Temperatures. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 130: 131-139.
- Castellanos JZ, Borbón CM. 2009. Panorama de la horticultura protegida en México. In: *Manual de producción de tomate en invernadero*. J. Z. Castellanos (ed.). INTAGRI. México. Pp. 1-18.
- Castillo CR, Sotomayor LS, Ortiz CO, Leonelli GC, Borie FB, Rubio RH. 2009. Effect of Arbuscular mycorrhizal fungi on an ecological crop of chili peppers (*Capsicum annuum* L.). *Chilean Journal of Agricultural Research*. 69: 79-87.
- Castillo CR, Sotomayor SL, Ortiz CO, Leonelli CG, Borie BF, Rubio HRR. 2009. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on an ecological crop of chili peppers (*Capsicum annuum* L.). *Chilean Journal of Agricultural Research*. 69: 79-87.
- Castillo UF, Strobel GA, Ford EJ, Hess WM, Porter H, Jensen JB, Albert H, Robison R, Condrón MAM, Teplow DB, Stevens D, Yaver D. 2002. Munumbicins, wide-spectrum antibiotics produced by *Streptomyces* NRRL 30562, endophytic on *Kennedia nigricans*. *Microbiology*. 148: 2675-2685.

- Cekic FO, Unyayar S, Ortas I. 2012. Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation on biochemical parameters in *Capsicum annuum* grown under long term salt stress. Turk Journal Botany. 36: 63-72.
- Chakraborty U, Chakraborty BN, Roychowdhury P. 2013. Plant growth promoting activity of *Bacillus pumilus* in tea (*Camellia sinensis*) and its biocontrol potential against *Poria hypobrunnea*. Indian Phytopathol. 66: 387-396.
- Chatterton S, Sutton JC, Boland GJ, 2004. Timing *Pseudomonas chlororaphis* applications to control *Pythium aphanidermatum*, *Pythium dissotocum*, and rootrot in hydroponic peppers. Biological Control. 30: 360-373.
- Chepiński P, Skupień K, Ochmian I. 2010. Effect of fertilization on yield and quality of cultivar kent strawberry fruit. Juornal Elementol. 15: 251-257.
- Colla G, Roupael Y, Cardarelli M, Tullio M, Rivera CM, Rea E, 2008. Alleviation of salt stress by arbuscular mycorrhizal in zucchini plants grown at low and high phosphorus concentration Biology and Fertility of Soils. 44: 501-509.
- Conn SJ, Hocking B, Dayod M, Xu B, Athman A, Henderson S, Gilliam M. 2013. Protocol: optimising hydroponic growth systems for nutritional and physiological analysis of *Arabidopsis thaliana* and other plants. Plant Methods. 9: 1-11.
- Cornejo P, Meier S, Borie G, Rillig M, Borie F. 2008. Glomalin related soil protein in a Mediterranean ecosystem affected by a copper smelter and its contribution to Cu and Zn sequestration. Science of the Total Environment. 406:154-160.
- Cruz-Martín M, Mena E, Sánchez-García C, Roque B, Acosta-Suárez M. 2015. The effects of plant growth promoting *Bacillus pumilus* CCIBP- C5 on “Grande naine” (*Musa AAA*) plants in acclimatization stage. Biotecnología Vegetal. 15: 151-156.
- Cyphers A, Escalante GP, García-Bárcena J, García MB, López LL, Matos ME, Nalda E, Noriega de AMN, Pacheco JE, Uriarte CMT. 2009. Los Chiles de México Catalogo Visual. Arqueología Mexicana. Edición Especial 32: 90 p.
- Dąbrowska G, Baum C, Trejgell A, Hryniewicz K. 2014. Impact of arbuscular mycorrhizal fungi on the growth and expression of gene encoding stress protein-

- metallothionein BnMT2 in the non-host crop *Brassica napus* L. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. 177: 459-467.
- De, AK. 2003. *Capsicum*. The Genus *Capsicum*. Taylor and Francis. London. 256 p.
- Dell'Amico E, Cavalca L, Andreoni, V. 2008. Improvement of *Brassica napus* growth under cadmium stress by cadmium-resistant rhizobacteria. *Soil Biology and Biochemistry*. 40: 74-84.
- Díaz RJ, Rosenberg R. 2008. Spreading dead zones and consequences for marine ecosystems. *Science*. 321: 926-929.
- Díaz VP, Ferrera-Cerrato R, Almaraz-Suárez JJ, Alcanzar GG. 2001. Inoculación de bacterias de crecimiento en lechuga. *Terra Latinoamericana*. 19: 327-335.
- Díaz-Franco A, Carrillo MA, Ortiz-Chairez F, Grageda-Cabrera O. 2013. Plant nutrition and fruit quality of pepper associated with arbuscular mycorrhizal in greenhouse. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 4: 315-321.
- Diniz KA, Silva PA, Oliveira JA, Evangelista JRE. 2009. Sweet pepper seed responses to inoculation with microorganisms and coating with micronutrients, amino acids and plant growth regulators. *Scientia Agricola*. 66: 293-297.
- Douds Jr. DD, Lee J, Rogers L, Lohman ME, Pinzon N, Ganser S. 2012. Utilization of inoculum of AM fungi produced on-farm for the production of *Capsicum annuum*: A summary of seven years of field. *Biological Agriculture & Horticulture* 28: 129-145.
- Dugassa DG, Grunewaldt-Stöcker G, Schönbeck F, 1995. Growth of *Glomus intraradices* and its effect on linseed (*Linum usitatissimum* L.) in hydroponic culture. *Mycorrhiza*. 5: 279-282.
- Egamberdiyeva D. 2007. The effect of plant growth promoting bacteria on growth and nutrient uptake of maize in two different soils. *Applied Soil Ecology*. 36: 184-189.
- Elhindi KM, El-din AS, Elgorban AM. 2017. The impact of arbuscular mycorrhizal fungi in mitigating salt-induced adverse effects in sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *Saudi Journal of Biological Sciences*. 24:170-179.
- Eshbaugh, WH. 1983. The genus *Capsicum* (*Solanaceae*) in Africa. *Bothalia* 14: 845-848.

- FAOSTAT. 2013. Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistics Division [En línea] <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/S>. Consultado el 21 de septiembre de 2015.
- FAOSTAT. 2014. Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistics Division [En línea] <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/S>. Consultado el 24 de febrero de 2017.
- FAOSTAT. 2016. United Nations, Food and Agriculture Organization. Agricultural trade. <http://www.fao.org/>. Consultado el 24 de febrero de 2017.
- Fellbaum CR, Gachomo EW, Beesetty Y, Choudhari S, Strahan GD, Pfeffer PE, Kiers ET, H Bücking. 2012. Carbon availability triggers fungal nitrogen uptake and transport in arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 109: 2666-2671.
- Feng G, Zhang FS, Li XL, Tian CY, Tang C, Rengel Z, 2002. Improved tolerance of maize plants to salt stress by arbuscular mycorrhiza is related to higher accumulation of soluble sugars in roots. *Mycorrhiza*. 12:185-190.
- Flores P, Fenoll J, Hellin P, Aparicio-Tejo P. 2010. Isotopic evidence of significant assimilation of atmospheric-derived nitrogen fixed by *Azospirillum brasilense* co-inoculated with phosphate-solubilising *Pantoea dispersa* in pepper seedling. *Applied Soil Ecology*. 46: 335-340.
- Galloway JN, Townsend AR, Erismán JW, Bekunda M, Cai Z, Freney JR, Sutton M. 2008. Transformation of the nitrogen cycle: recent trends, questions, and potential solutions. *Science*. 320: 889-892.
- García JAL, Probanza A, Ramos B, Palomino MR., Mañero FJG., 2004. Effect of inoculation of *Bacillus licheniformis* on tomato and pepper. *Agronomie*. 24, 169-176.
- Garg N, Chandel S. 2010. Arbuscular mycorrhizal networks: process and functions. A review. *Agronomy for Sustainable Development*. 30: 581-599.

- Giri B, Mukerji KG. 2004. Mycorrhizal inoculant alleviates salt stress in *Sesbania aegyptiaca* and *Sesbania grandiflora* under field conditions: evidence for reduced sodium and improved magnesium uptake. *Mycorrhiza*. 14: 307-312.
- Glick BR (2012) Plant growth promoting bacteria: mechanisms and applications. *Scientifica* 2012: 1–15.
- Goicoechea N, Baslam M, Erice G, Irigoyen JJ. 2014. Increased photosynthetic acclimation in alfalfa associated with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and cultivated in greenhouse under elevated CO<sub>2</sub>. *Journal of Plant Physiology*. 171: 1774-1781.
- Gomiero T, Pimentel D, Paoletti MG. 2011. Environmental impact of different agricultural management practices: conventional vs. organic agriculture. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 30: 95-124.
- Govindasamy V, Senthilkumar M. 2011. *Bacillus* and *Paenibacillus* spp: Potential PGPR for sustainable agriculture. En: Maheshwari, DK, editors. *Plant Growth and Health Promoting Bacteria*. Berlin, Heidelberg. Springer Berlin Heidelberg: 333-364.
- Gül, A., Kıdoğlu, F., Tüzel, Y., Tüzel, H., 2008. Effects of nutrition and *Bacillus amyloliquefaciens* on tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Spanish Journal of Agricultural Research*. 6: 422-429.
- Guo, Y, Ni Y, Huang J. 2010. Effects of *Rhizobium*, arbuscular mycorrhiza and lime on nodulation, growth and nutrient uptake of lucerne in acid purplish soil in China. *Tropical Grasslands*. 44: 109-114.
- Gyaneshwar P, Kumar GN, Parekh LJ, Poole PS. 2002. Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. *Plant Soil*. 245: 83-93.
- Haas D, Défago G. 2005. Soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Nature Reviews Microbiology*. 3: 1-13.
- Hartmann M, Frey B, Mayer J, Mäder P, Widmer F. 2015. Distinct soil microbial diversity under long-term organic and conventional farming. *The ISME Journal*. 9: 77-94.
- Hawkins HJ, George E, 1997. Hydroponic culture of the mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* with *Linum usitatissimum* L.: *Sorghum bicolor* L. and *Triticum aestivum* L. *Plant Soil* 196: 143-149.

- Herman MB, Nault B, Smart CD. 2008. Effects of plant growth-promoting rhizobacteria on bell pepper production and green peach aphid infestations in New York. *Crop Protection*. 27: 996-1002.
- Hernández VS, Dávila PA, Oyama K. 1999. Síntesis del conocimiento taxonómico, origen y domesticación del género *Capsicum*. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 64: 65-84.
- Hernandez-Rodriguez A, Heydrich-Perez M, Acebo-Guerrero Y, Velazquez-Del Valle MG, Hernandez-Lauzardo AN. 2008 Antagonistic activity of Cuban native rhizobacteria against *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenb. in maize ( *Zea mays* L.). *Applied Soil Ecology*. 39:180-186.
- Hess JL, Shiffler AK, Jolley VD. 2005. Survey of mycorrhizal colonization in native, open-pollinated, and introduced hybrid maize in Villages of Chiquimula, Guatemala. *Journal of Plant Nutrition*. 28: 1843-1852.
- Hibar K, Daami-Remadi, M, Hamada W, El-Mahjoub M, 2006. Bio-fungicides asan alternative for tomato *Fusarium* crown and root rot control. *Tunisian Journal of Plant Protection*. 1: 19-29.
- Hoben JP, Gehl RJ, Millar N, Grace PR, Robertson GP. 2011. Nonlinear nitrous oxide (N<sub>2</sub>O) response to nitrogen fertilizer in on-farm corn crops of the US Midwest. *Global Change Biology* 17: 1140-1152.
- Hodge A, Storer K. 2015. Arbuscular mycorrhiza and nitrogen: implications for individual plants through to ecosystems. *Plant Soil*. 386: 1-19.
- Hoon S, Cho H, Cheong H, Ryu C, Kim JF, Park S. 2007. Two bacterial entophytes eliciting both plant growth promotion and plant defense on pepper (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 17: 96-103.
- Horst WJ, Kamh M, Jibrin JM, Chude VO. 2001. Agronomic measures for increasing P availability to crops. *Plant Soil*. 237:211–223.
- Huang X, Zhang N, Yong X, Yang X, Shen, Q. 2012. Biocontrol of *Rhizoctonia solani* damping-off disease in cucumber with *Bacillus pumilus* SQR-N43. *Microbiological Research*. 167: 135-143.

- Hultberg M, Holmkvist A, Alsanius B. 2011. Strategies for administration of biosurfactant-producing pseudomonads for biocontrol in closed hydroponic systems. *Crop Protection*. 30: 995-999.
- IBPGR.1983. International Board for Plant Genetic Resources. Wageningen. The Netherlands.
- Igura N, Fujii M, Shimoda M, Hayakawa I, 2004. Research note: inactivation efficiency of ozonated water for *Fusarium oxysporum* conidia under hydroponic greenhouse conditions. *Ozone: Science & Engineering*. 26: 517-521.
- Ijdo M, Cranenbrouck S, Declerck S. 2011. Methods for large-scale production of AM fungi: past, present, and future. *Mycorrhiza*. 21: 1-16.
- Izco J, 2004. *Botánica*. Segunda edición. Mc. Graw Hill – Interamericana. México. 508p.
- Jansa J, Bukovská P, Gryndler M. 2013. Mycorrhizal hyphae as ecological niche for highly specialized hypersymbionts - or just soil free-riders? *Frontiers in Plant Science*. 4: 1-8.
- Jeffries P, Gianinazzi S, Perotto S. 2003. The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility. *Biology and Fertility of Soils*. 37: 1-16.
- Joo G, Kim Y, Lee I, Song K, Rhee I. 2004. Growth promotion of red pepper plug seedlings and the production of gibberellins by *Bacillus cereus*, *Bacillus macroides* and *Bacillus pumilus*. *Biotechnology Letters*. 26. 487-491.
- Karakurt H, Kotan R, Dadaşoğlu F, Aslantaş R, Şahin F. 2011. Effects of plant growth promoting rhizobacteria on fruit set , pomological and chemical characteristics, color values, and vegetative growth of sour cherry ( *Prunus cerasus* cv . Kütahya). *Turkish Journal of Biology*. 35: 283-291.
- Kavatagi PK, Lakshman HC. 2014. Interaction between AMF and plant growth-promoting rhizobacteria on two varieties of *Solanum lycopersicum* L. *World Applied Sciences Journal*. 32 2054-2062.

- Kaya C, Ashraf M, Sonmez O, Aydemir S, Tuna AL, Cullu MA. 2009. The influence of arbuscular mycorrhizal colonisation on key growth parameters and fruit yield of pepper plants grown at high salinity. *Scientia Horticulturae*. 121: 1-6.
- Khalil S, Alsanius BW, 2009. Utilisation of carbon sources by *Pythium*, *Phytophthora* and *Fusarium* species as determined by Biolog® microplate assay. *The Open Microbiology Journal*. 3: 9-14.
- Khalil S, Baath, E, Alsanius, B, Englund, JE, Sundin P, Gertsson UE, Jensén P. 2001. A comparison of sole carbon source utilization patterns and phospholipid fatty acid profiles to detect changes in the root microflora of hydroponically grown crops. *Canadian Journal of Microbiology*. 47: 302-308.
- Khalil S, Hultberg M, Alsanius BW. 2009. Effects of growing medium on the interactions between biocontrol agents and tomato root pathogens in a closed hydroponic system. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 84: 489-494.
- Khan A, Sutton JC, Grodzinski B, 2003. Effects of *Pseudomonas chlororaphis* on *Pythium aphanidermatum* and root rot in peppers grown in small-scale hydroponic troughs. *Biocontrol Science and Technology*. 13: 615-630.
- Khan, EM, Passam HC. 1992. Flowering, fruit set and development of the fruit and seed of sweet pepper (*Capsicum annum* L.) cultivated under conditions of high ambient temperature. *Journal of Horticultural Science*. 67: 251-258.
- Kıdoğlu F, Gül A, Tüzel Y, Özaktan, H, 2009. Yield enhancement of hydroponically grown tomatoes by rhizobacteria. *Acta Horticulturae*. 807: 475-480.
- Kim K, Yim W, Trivedi P, Madhaiyan M, Boruah HPD, Rashedul MI, Lee G, Sa T. 2010. Synergistic effects of inoculating arbuscular mycorrhizal fungi and *Methylobacterium oryzae* strains on growth and nutrient uptake of red pepper (*Capsicum annum* L.). *Plant Soil*. 327: 429-440.
- Kloepper JW, Gutierrez-Estrada A, McInroy JA. 2007. Photoperiod regulates elicitation of growth promotion but not induced resistance by plant growth-promoting rhizobacteria. *Canadian Journal of Microbiology*. 53: 159-167.

- Kloepper JW. 1993. Plant-growth promoting rhizobacteria as biological control agents. In: Metting FB (Eds) Soil Microbial Ecology: Applications in Agricultural and Environmental Management. New York, Marcel Dekker.
- Kloepper W, Schroth MN. 1981. Relationship of in vitro antibiosis of plant growth promoting rhizobacteria to plant growth and the displacement of root microflora. *Phytopathology*. 71: 1020-1024.
- Koide, R. T., Kabir, Z. 2000. Extraradical hyphae of the mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* can hydrolyse organic phosphate. *New Phytologist*. 148: 511-517.
- Kuan KB, Othman R, Rahim KA, Shamsuddin ZH. 2016. Plant growth-promoting rhizobacteria inoculation to enhance vegetative growth, nitrogen fixation and nitrogen remobilisation of maize under greenhouse conditions. *PloS One*. 11: 1-19.
- Kumar A, Prakash A, Johri B N. 2011. *Bacillus* as PGPR in crop ecosystem. En: Maheshwari D. K, editors. *Bacteria in agrobiological crop ecosystems*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, p. 37-59.
- Kumar, GP, Leo NKE, Amalraj D, Hassan SKM, Abdul A. 2012. Evaluation of *fluorescent Pseudomonas* spp. with single and multiple PGPR traits for plant growth promotion of sorghum in combination with AM fungi. *Plant Growth Regulation*. 67: 133-140.
- Kuss AV, Kuss VV, Lovato T, Mi F. 2007. Fixação de nitrogênio e produção de ácido indolacético in vitro por bactérias diazotróficas endofíticas. *PAB* 42:1459-1465.
- Larsen J, Cornejo P, Barea JM. 2009. Interactions between the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* and the plant growth promoting rhizobacteria *Paenibacillus polymyxa* and *P. macerans* in the mycorrhizosphere of *Cucumis sativus*. *Soil Biology and Biochemistry*. 41: 286-292.
- Lee S, Ahn I, Sim S, Lee S, Seo M, Kim S, Park S, Lee Y, Kang S, 2010. *Pseudomonas* sp. LSW25R, antagonistic to plant pathogens, promoted plant growth, and reduced blossom-end rot of tomato fruits in a hydroponic system. *European Journal of Plant Pathology*. 126: 1-11.
- Lee S, Ahn I, Sim S, Lee S, Seo M, Kim S, Park S, Lee Y, Kang S. 2010. *Pseudomonas* sp. LSW25R, antagonistic to plant pathogens, promoted plant growth, and reduced

- blossom-end rot of tomato fruits in a hydroponic system. *European Journal of Plant Pathology*. 126: 1-11.
- Lee S, Ge C, Bohrerova Z, Grewal PS, Lee J, 2015. Enhancing plant productivity while suppressing biofilm growth in a windowfarm system using beneficial bacteria and ultraviolet irradiation. *Canadian Journal of Microbiology*. 61: 457-466.
- Lee S, Ge C, Bohrerova Z, Grewal PS, Lee J. 2015. Enhancing plant productivity while suppressing biofilm growth in a windowfarm system using beneficial bacteria and ultraviolet irradiation. *Canadian Journal of Microbiology*. 61: 457-466.
- Lee S, Lee J. 2016. Beneficial bacteria and fungi in hydroponic systems: Types and characteristics of hydroponic food production methods. *Scientia Horticulturae* 195: 206-215.
- Lee S, Lee, J. 2015. Beneficial bacteria and fungi in hydroponic systems : Types and characteristics of hydroponic food production methods. *Scientia Horticulturae*. 195: 206-215.
- Lee Y, Krishnamoorthy R, Selvakumar G, Kim K, Sa T. 2015. Alleviation of salt stress in maize plant by co-inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi and *Methylobacterium oryzae* CBMB20. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*. 58: 533-540.
- Lee YJ, George E, 2005. Contribution of mycorrhizal hyphae to the uptake of metal cations by cucumber plants at two levels of phosphorus supply. *Plant Soil*. 278: 361-370.
- Lehmann A, Rillig, MC. 2015. Arbuscular mycorrhizal contribution to copper, manganese and iron nutrient concentrations in crops-A meta-analysis. *Soil Biology and Biochemistry*. 81: 147-158.
- Leogrande R, Lopodota O, Fiore A, Vitti C, Ventrella D, Montemurro F. 2013. Previous crops and organic fertilizers in lettuce: effects on yields and soil properties. *Journal of Plant Nutrition*. 36: 1945-1962.
- Li M, Ishiguro Y, Otsubo K, Suzuki H, Tsuji T, Miyake N, Nagai H, Suga H, Kageyama K, 2014. Monitoring by real-time PCR of three water-borne zoosporic *Pythium* species in

- potted flower and tomato greenhouses underhydroponic culture systems. *European Journal of Plant Pathology*. 140: 229-242.
- Lim JH, Kim SD 2009. Synergistic plant growth promotion by the indigenous auxins-producing PGPR *Bacillus subtilis* AH18 and *Bacillus licheniformis* K11. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*. 52: 531-538.
- Lin Y, Du D, Si C, Zhao Q, Li Z, Li P. 2014. Potential biocontrol *Bacillus* sp. strains isolated by an improved method from vinegar waste compost exhibit antibiosis against fungal pathogens and promote growth of cucumbers. *Biological Control*. 71: 7-15.
- Liu W, Sutton JC, Grodzinski B, Kloepper JW, Reddy MS, 2007. Biological control of *pythium* root rot of chrysanthemum in small-scale hydroponic units. *Phytoparasitica*. 35: 159-178.
- Loaiza-Figueroa F, Ritland, K, Laborde-Cancino JA, Tanksley S.D 1989. Patterns of genetic variation of the genus *Capsicum* (Solanaceae) in Mexico. *Plant Systematics and Evolution*. 165: 159-188.
- Lommen WJM. 2007. The canon of potato science: 27. Hydroponics. *Potato Research*. 50: 3-4.
- Long-Solis J. 1986. *Capsicum y cultura. La historia del chilli*. Fondo de Cultura Económico, México, 178 p.
- Lugtenberg B, Kamilova F, 2009. Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annual Review of Microbiology*. 63:541-556.
- Mahanty T, Bhattacharjee S, Goswami M, Bhattacharyya P, Das B, Ghosh A, Tribedi P. 2016. Biofertilizers: a potential approach for sustainable agriculture development. *Environmental Science and Pollution Research*: 1-21.
- Malusa E, Vassilev N. 2014. A contribution to set a legal framework for biofertilisers. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 98: 6599-6607.
- Manirakiza P, Covaci A, Schepens P. 2003. Pungency principles in *Capsicum* analytical determinations and toxicology. In: De, A. K. (ed) *Capsicum. The Genus Capsicum*. Taylor and Francis. London. pp: 71-86.

- Marques APGC, Oliveira RS, Rangel AOSS, Castro PML. Zinc accumulation in *Solanum nigrum* is enhanced by different arbuscular mycorrhizal fungi. *Chemosphere*. 2006. 65: 1256-1263.
- Mayak S, Tirosch T, Glick BR. 1999. Effect of wild-type and mutant plant growth-promoting rhizobacteria on the rooting of mung bean cuttings. *Journal of Plant Growth Regulation* 18: 49-53.
- McComb RB, Bowers Jr GN, Posen S (2013) Alkaline phosphatase. *Springer Science & Business Media* 79–436.
- Mena-Violante H, Ocampo-Jimenez O, Dendooven L, Martínez-Soto G, González-Castañeda J, Davies FT, Olalde-Portugal V. 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi enhance fruit growth and quality of chile ancho (*Capsicum annuum* L. cv San Luis) plants exposed to drought. *Mycorrhiza* 16: 261-267.
- Minuto A, Spadaro D, Garibaldi A, Gullino ML, 2006. Control of soilborne pathogens of tomato using a commercial formulation of *Streptomyces griseoviridis* and solarization. *Crop Protection*. 25: 468-475.
- Mohamed AA, Eweda WEE, Heggo AM, Hassan EA. 2014. Effect of dual inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi and sulphur-oxidising bacteria on onion (*Allium cepa* L.) and maize (*Zea mays* L.) grown in sandy soil under green house conditions. *Annals of Agricultural Sciences*. 59: 109-118.
- Montes S. 2010. Recopilación y análisis de la información existente de las especies del género *Capsicum* que crecen y se cultivan en México. Avances de investigación de la red de hortalizas del SINAREFI. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Bajío. Celaya, México. 86 p.
- Moreno PE, Mora AR, Sánchez CF, García-Perez V. 2011. Fenología y rendimiento de híbridos de pimiento morrón. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 17: 5-18.
- Moreno SG, Vela HP, Álvarez MOS. 2008. La fluorescencia de la clorofila a como herramienta en la investigación de efectos tóxicos en el aparato fotosintético de plantas y algas. *REB*. 27: 119-129.

- Moreno-Rojas K. 2013. Chiles y salsas en México. Un sabor a identidad. INAH, Colonia Hipódromo, México D.F. Disponible en: <http://www.inah.gob.mx/es/reportajes/597-chiles-y-salsas-en-mexico-un-sabor-a-identidad>.
- Murugappan RM, Benazir-Begum S, Raja RR. 2013. Symbiotic influence of endophytic *Bacillus pumilus* on growth promotion and probiotic potential of the medicinal plant *Ocimum sanctum*. *Symbiosis*. 60: 91-99.
- Muthukumar T, Priyadharsini P, Uma E, Jaison S, Pandey RR. 2014. Role of arbuscular mycorrhizal fungi in alleviation of acidity stress on plant growth. In: Miransari M (ed.) *Use of microbes for the alleviation of soil stresses*, Vol. 1, Springer Science+Business Media NY, pp. 43–71.
- Nadeem SM, Ahmad M, Zahir ZA, Javaid A, Ashraf M. 2014. The role of mycorrhizae and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in improving crop productivity under stressful environments. *Biotechnology Advances*. 32: 429-448.
- Nakano H, Makino A, Mae T. 1997. The Effect of Elevated Partial Pressures of CO<sub>2</sub>, on the relationship between photosynthetic capacity and N content in rice leaves. *Plant Physiology*. 115: 191-198.
- Nandjui J, Rosin D, Voko R, Kouadio ANM, Fotso B, Tano Y, Zeze A. 2013. Assessment of the occurrence and abundance of mycorrhizal fungal communities in soils from yam (*Dioscorea* spp.) cropping fields in Dabakala, North Côte d'Ivoire. *African Journal of Agricultural Research*. 8: 5572-5584.
- Neeraj KS. 2011. Organic amendments to soil inoculated arbuscular mycorrhizal fungi and *Pseudomonas fluorescens* treatments reduce the development of root-rot disease and enhance the yield of *Phaseolus vulgaris* L. *European Journal of Soil Biology*. 47: 288-295.
- Nihorimbere V, Cawoy H, Seyer A, Brunelle A, Thonart P, Ongena M, 2012. Impact of rhizosphere factors on cyclic lipopeptide signature from the plantbeneficial strain *Bacillus amyloliquefaciens* S499. *FEMS Microbiology Ecology*. 79:176-191.

- Noori, SMS, Saud MH. 2012. Potential plant growth-promoting activity of *Pseudomonas* sp. isolated from paddy soil in Malaysia as biocontrol agent. *Plant Pathology and Microbiology*. 3: 2-5.
- Nuez F, Gil OR, Costa J. 2003. El cultivo de pimientos, Chiles y Ajés. Mandí-Prensa. España. 15 p.
- O'Neill TM, Deery SJ, Scott G, Dickinson M, 2014. Monitoring tomato rootmicroorganisms. *Acta Horticulturae*. 1044: 81-88.
- Oliveira RS, Boyer LR, Carvalho MF, Jeffries P, Vosátka M, Castro PML, Dodd JC. 2010. Genetic, phenotypic and functional variation within a *Glomus geosporum* isolate cultivated with or without the stress of a highly alkaline anthropogenic sediment. *Applied Soil Ecology*. 45: 39-48.
- Ordookhani K, Zare M. 2011. Effect of *Pseudomonas*, *Azotobacter* and arbuscular mycorrhiza fungi on lycopene, antioxidant activity and total soluble solid in tomato (*Lycopersicon esculentum* F1 Hybrid, Delba). *Advances in Environmental Biology*. 5: 1290-1294.
- Ortas I, Sari N, Akpınar C, Yetisir H. 2011. Screening mycorrhiza species for plant growth, P and Zn uptake in pepper seedling grown under greenhouse conditions. *Scientia Horticulturae*. 128: 92-98.
- Ortas I, Ustuner O. 2014. Determination of different growth media and various mycorrhizae species on citrus growth and nutrient uptake. *Scientia Horticulturae*. 166:84-90.
- Ortas I. 2003. Effect of selected mycorrhizal inoculation on phosphorus sustainability in sterile and non-sterile soils in the Harran Plain in South Anatolia. *Journal of Plant Nutrition*. 26: 1-17.
- Padmavathi T, Dikshit R, Seshagiri S. 2015. Effect of *Rhizophagus* spp. and plant growth-promoting *Acinetobacter junii* on *Solanum lycopersicum* and *Capsicum annuum*. *Brazilian Journal of Botany*. 38: 273-280.
- Padmavathi T, Dikshita R, Seshagiri S. 2016. Influence of *Rhizophagus* spp. and *Burkholderia seminalis* on the growth of tomato (*Lycopersicon esculatum*) and bell

- pepper (*Capsicum annuum*) under drought stress. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 47: 1975-1984.
- Palencia P, Martínez F, Pestana M, Oliveira JA, Correia PJ. 2015. Effect of *Bacillus velezensis* and *Glomus intraradices* on fruit quality and growth parameters in strawberry soilless growing system. *The Horticulture Journal*. 84: 122-130.
- Paran I, Ben-Chaim A, Byoung-Cheorl K, Jahn M. 2007. *Capsicums*. In: genome mapping and molecular breeding in plants. Kole C (Ed). Springer-Verlag Berlin Heidelberg Vegetables 5: 209-226.
- Patten CL, Glick BR. 2002. Role of *Pseudomonas putida* indole acetic acid in development of host plant root system. *Applied and Environmental Microbiology*. 48: 3795-3801.
- Peer RV, Schippers B, 1989. Plant growth responses to bacterization with selected *Pseudomonas* spp. strains and rhizosphere microbial development in hydroponic cultures. *Canadian Journal of Microbiology*. 35: 456-463.
- Pereira SI, Castro PM. 2014. Phosphate-solubilizing rhizobacteria enhance *Zea mays* growth in agricultural P-deficient soils. *Ecological Engineering*. 73:526-535.
- Pereira WE, Siqueira DLD, Martinez CA, Puiatti M. 2000. Gas exchange and chlorophyll fluorescence in four citrus rootstocks under aluminum stress. *Journal of Plant Physiology*. 157: 513-520.
- Perner H, Schwarz D, Bruns C, Mäder P, George E. 2007. Effect of arbuscular mycorrhizal colonization and two levels of compost supply on nutrient uptake and flowering of pelargonium plants. *Mycorrhiza*. 17: 469-474.
- Phillips JM, Hayman DS. 1970. Improved procedures for clearing and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *The British Mycological Society*. 55: 158-161.
- Pii Y, Mimmo T, Tomasi N, Terzano R, Cesco S, Crecchio C. 2015. Microbial interactions in the rhizosphere: beneficial influences of plant growth-promoting rhizobacteria on nutrient acquisition process- a review. *Biology and Fertility of Soils*. 51:403–415

- Pineda-Mendoza DY. 2015. Potencial de tres cepas de rizobacterias como antagonistas de *Rhizoctonia solani* en chile serrano (*Capsicum annuum* L.). Tesis de maestría en edafología. Colegio de Postgraduados, Área de Microbiología.
- Plassard C, Fransson P. 2009. Regulation of low molecular weight organic acid production in fungi. *Fungal Biology Reviews*. 23:30-39.
- Raaijmakers JM, Bruijn I, Nybroe O, Ongena M. 2010. Natural functions of lipopeptides from *Bacillus* and *Pseudomonas*: more than surfactants and antibiotics. *FEMS Microbiology Letters*. 34: 1037-1062.
- Raines DJ, Sanderson TJ, Wilde EJ, Duhme-Klair AK. 2015. Siderophores. En Elsevier Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering. Elsevier, Waltham.
- Rainey PB, Brodey CL, Johnstone K. 1993. Identification of a gene cluster encoding three high-molecular-weight proteins, which is required for synthesis of tolaasin by the mushroom pathogen *Pseudomonas tolaasii*. *Molecular Microbiology*. 8: 643-652.
- Ramírez J. 1996. El Chile. CONABIO. *Biodiversitas*. 8: 8-14.
- Rana A. 2011. Identification of multi-trait PGPR isolates and evaluating their potential as inoculants for wheat. *Annals of Microbiology*. 61: 893-900.
- Reséndiz-Melgar RC, Moreno-Pérez EC, Castillo FS, Rodríguez-Pérez JE, Peña-Lomelí A. 2010. Variedades de pimiento morrón manejadas con despunte temprano en dos densidades de población. *Revista Chapingo Serie Horticultura*. 16: 223-229.
- Rodríguez-Mendoza MN, San Miguel-Chávez R, García-Cué JL, Benavides-Mendoza A. 2013. Inoculation of growth-promoting bacteria in melon (*Cucumis Melo*). *Interciencia*. 38: 857-862.
- Rohyadi A. 2008. Growth responses of external hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi to acidic soil conditions and their effects on cowpea growth. *Microbiology Society Journals* 2: 22-26.

- Rose S, Parker M, Punja ZK, 2003. Efficacy of biological and chemical treatments for control of *fusarium* root and stem rot on greenhouse cucumber. *Plant Disease Journal*. 87: 1462-1470.
- Rouphael Y, Cardarelli M, Colla G. 2015. Role of arbuscular mycorrhizal fungi in alleviating the adverse effects of acidity and aluminum toxicity in zucchini squash. *Scientia Horticulturae*. 188: 97-105.
- Rueda-Puente EO, Murillo-Amador B, Castellanos-Cervantes T, García-Hernández JL, Tarazón-Herrera MA, Moreno SM, Gerlach LEB. 2010. Effects of plant growth promoting bacteria and mycorrhizal on *Capsicum annuum* L. var. aviculare ([Dierbach] D'Arcy and Eshbaugh) germination under stressing abiotic conditions. *Plant Physiology and Biochemistry*. 48: 724-730.
- Rui-Qin Z, Hong-Hui Z, Hai-Quan Zo, Qing Y, 2013. Arbuscular mycorrhizal fungal inoculation increases phenolic synthesis in clover roots via hydrogen peroxide, salicylic acid and nitric oxide signaling pathways. *Journal of Plant Physiology*, Vol. 170, Issue 1, pp. 74–79.
- Ruíz-Sánchez M, Armada E, Muñoz Y, García de Salamone IE, Aroca R, Ruíz-Lozano JM, Azcón R. 2011. *Azospirillum* and arbuscular mycorrhizal colonization enhance rice growth and physiological traits under well watered and drought conditions. *Journal of Plant Physiology*. 168: 1031-1037.
- Russo MV, Perkins-Veazie P. 2010. Yield and nutrient content of bell pepper pods from plants developed from seedlings inoculated, or not, with microorganisms. *Hortscience*. 45: 352-358.
- Russo MV. 2006. Biological amendment, fertilizer rate, and irrigation frequency for organic Bell pepper transplant production. *HortScience* 41: 1402-1407.
- Ryan MH, Graham JH. 2002. Is there a role for arbuscular mycorrhizal fungi in production agriculture? *Plant and Soil*, 244: 263-271.
- SAGARPA, Oportunidades de mercado nacional e internacional para México, 2009. Disponible en: <http://www.sagarpa.gob.mx/agronegocios/Documents/SectorialPropuesta.pdf>; consultado el 22 de febrero de 2016

- Salazar-Jara FI, Juárez-López P. 2013. Requerimiento macronutricional en plantas de Chile (*Capsicum annuum* L.). *Revista Bio Ciencias*. 2: 27-34.
- Salisbury FB, Ross CW. 1994. *Fisiología vegetal*. Grupo Editorial Iberoamericana S.A. de C. V. México pp. 71-441.
- SAS Institute Inc. 2002. *The SAS system for windows version 9.0* SAS Institute Inc. Cary, North Carolina, USA.
- Savci S. 2012. "An Agricultural Pollutant: Chemical Fertilizer". *International Journal of Environmental Science and Development*. 3: 73-80.
- Schüßler A, Schwarzott D, Walker C. 2001. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycological Research*. 105: 1413-1421.
- Schüßler A, Schwarzott D, Walker C. 2001. A new fungal phylum, the *Glomeromycota*: phylogeny and evolution. *Mycological Research*. 105: 1413-1421.
- Senés-Guerrero C, Schüßler A. 2016. A conserved arbuscular mycorrhizal fungal core-species community colonizes potato roots in the Andes. *Fungal Divers*. 77: 317-333.
- Sensoy S, Demir S, Turkmen O, Erdinc C, Savur OB. 2007. Responses of some different pepper (*Capsicum annuum* L.) genotypes to inoculation with two different arbuscular mycorrhizal fungi. *Scientia Horticulturae*. 113: 92-95.
- Sensoy S, Demir S, Turkmen O, Erdinc C, Savur OB. 2007. Responses of some different pepper (*Capsicum annuum* L.) genotypes to inoculation with two different arbuscular mycorrhizal fungi. *Scientia Horticulturae*. 113: 92-95.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). 2010. *Un panorama del cultivo del Chile*. SIAP. México. 20 pp.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). 2014. [http://www.siap.gob.mx/agricola\\_siap/identidad/index.jsp](http://www.siap.gob.mx/agricola_siap/identidad/index.jsp). (Consultada 20 de septiembre de 2016).
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). 2016. <http://www.siap.gob.mx/>. (Consultado 05 de agosto de 2016).

- Smil V. 1999. Nitrogen in crop production: An account of global flows. *Global Biogeochemical Cycles*. 13: 647-662.
- Smith FW, Rae AL, Hawkesford MJ. 2000. Molecular mechanisms of phosphate and sulphate transport in plants. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1465: 236-245.
- Smith SE, Jakobsen I, Gronlund M, Smith FA. 2011. Roles of arbuscular mycorrhizas in plant phosphorus nutrition: interactions between pathways of phosphorus uptake in arbuscular mycorrhizal roots have important implications for understanding and manipulating plant phosphorus acquisition. *Journal of Plant Physiology*. 156: 1050-1057.
- Smith SE, Manjarrez, M, Stonor R, McNeill A, Smith FA. 2015. Indigenous arbuscular mycorrhizal (AM) fungi contribute to wheat phosphate uptake in a semi-arid field environment, shown by tracking with radioactive phosphorus. *Applied Soil Ecology*. 96: 68-74.
- Smith SE, Read DJ. 2008. *Mycorrhizal symbiosis*. (3rd ed.) Academic Press, New York, London, Burlington, San Diego.
- Smith SE, Smith FA. 2012. Fresh perspectives on the roles of arbuscular mycorrhizal fungi in plant nutrition and growth. *Mycologia*. 104: 1-13.
- Son JE, Kim HJ, Ahn, TI. 2016. *Hydroponic Systems*. Plant Factory. Elsevier Inc. <http://doi.org/10.1016/B978-0-12-801775-3.00017-2>.
- Son JS, Sumayo M, Hwang YJ, Kim BS, Ghim SY. 2014. Screening of plant growth-promoting rhizobacteria as elicitor of systemic resistance against gray leaf spot disease in pepper. *Applied Soil Ecology*. 73: 1-8.
- Soti PG, Jayachandran K, Koptur S, Volin JC. 2015. Effect of soil pH on growth, nutrient uptake, and mycorrhizal colonization in exotic invasive *Lygodium microphyllum*. *Plant Ecology*. 216: 989-998.
- Spaepen S, Vanderleyden J. 2011. Auxin and plantmicrobe interactions. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. doi: 10.1101/cshperspect.a001438.

- Spiertz JHJ. 2010. Nitrogen, sustainable agriculture and food security. A review. *Agronomy for Sustainable Development*. 30: 43-55.
- Stanghellini ME, Rasmussen SL, Kim DH, Rorabaugh PA. 1996. Efficacy of nonionic surfactants in the control of zoospore spread of *Pythium aphanidermatum* in a recirculating hydroponic system. *Plant Disease Clinic*. 80:422-428.
- Stefan M, Dunca S, Olteanu Z, Oprica L, Hritcu L, Mihasan M, Cojocaru D. 2010. Soybean (*Glycine max* [L.] Merr.) Inoculation with *Bacillus pumilus* rs3 promotes plant growth and increases seed protein yield : relevance for environmentally - friendly agricultural applications. *Carpathian Journal of Earth And Environmental Sciences*. 5: 131-138.
- Steiner AA. 1961. A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. *Plant Soil*. 15: 134-154.
- Strasser RJ, Tsimilli-Michael M, Srivastava A. 2004. Analysis of the chlorophyll a fluorescence transient. En: Papageorgiou GC, Govindjee, editors. *Chlorophyll a fluorescence: a signature of photosynthesis, advances in photosynthesis and respiration series*. Kluwer Academic, Rotterdam. 321-362.
- Swain MR, Naskar SK, Ray RC. 2007. Indole-3-acetic acid production and effect on sprouting of yam (*Dioscorea rotunata* L.) minisetts by *Bacillus subtilis* isolated from culturable cowdung microflora. *Polish Journal of Microbiology*. 56: 103-110.
- Taiz L, Zeiger E 2009 *Fisiologia vegetal*, 4th edn. Artmed, Porto Alegre.
- Tanwar A, Aggareal A, Kadian N, Gupta A. 2013. Arbuscular mycorrhizal inoculation and super phosphate application influence plant growth and yield of *Capsicum annuum*. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 13: 55-66.
- Tanwar A, Aggarwal A. 2014. Multifaceted potential of bioinoculants on red bell pepper (F1 hybrid, Indam Mamatha) production. *Journal of Plant Interactions*. 9: 82-91.
- Tawarayaya K, Naito M, Wagatsuma T. 2006. Solubilization of insoluble inorganic phosphate by hyphal exudates of arbuscular mycorrhizal fungi. *Journal of Plant Nutrition* 29: 657–665.

- Thilagar G, Bagyaraj DJ, Rao MS. 2016. Selected microbial consortia developed for chilly reduces application of chemical fertilizers by 50% under field conditions. *Scientia Horticulturae*. 198: 27-35.
- Toljander JF, Lindahl BD, Paul LR, Elfstrand M, Finlay RD. 2007. Influence of arbuscular mycorrhizal mycelial exudates on soil bacterial growth and community structure. *FEMS Microbiology Ecology*. 61: 295-304.
- Tsukamoto T, Murata H, Shirata A. 2002. Identification of non-pseudomonad bacteria from fruit bodies of wild agaricales fungi that detoxify tolaasin produced by *Pseudomonas tolaasii*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 66, 2201-2208.
- Tucker GA. 1993. *Biochemistry of fruit ripening*. Editorial Chapman and Hall USA. pp. 1-15.
- Uddling J, Gelang-Alfredsson J, Piikki K, Pleijel H. 2007. Evaluating the relationship between leaf chlorophyll concentration and SPAD-502 chlorophyll meter readings. *Photosynthesis Research*. 91: 37-46.
- Urrestarazu, ML, Castillo JE, Salas MC. 2002. Técnicas culturales y calidad del pimiento. Departamento de producción vegetal-universidad de Almería. *Horticultura*, S.L.
- Utkhede RS, Leívesque, CA, Dinh D, 2000. *Pythium aphanidermatum* root rot inhydroponically grown lettuce and the effect of chemical and biological agentson its control. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 22: 138144.
- Vacheron J, Desbrosses G, Bouffaud ML, Touraine B, Moëgne-Loccoz Y, Muller D, Prigent-Combaret, C. 2013. Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. *Frontiers in Plant Science*. 4: 1-19.
- van der Heijden, MGA, Horton TR. 2009. Socialism in soil? The importance of mycorrhizal fungal networks for facilitation in natural ecosystems. *Journal of Ecology*. 97: 1139-1150.
- Vavrina CS. 1999. The effect of Is 213 (*Bacillus pumilus*) on plant growth promotion and systemic acquired resistance in muskmelon and watermelon transplants and subsequent field performance. *Acta Horticulturae*. 504: 107-112.

- Villarreal-Romero M, Hernández-Verdugo S, Sánchez-Peña P, García-Estrada RS, Osuna-Enciso T, Parra-Terrazas SADA. 2006. Efecto de cobertura del suelo con leguminosas en rendimiento y calidad del tomate. *Terra Latinoamericana*. 24: 549-556.
- Vilmorin DF. 1977. El cultivo del pimiento dulce tipo Bell. Ed. Diana. México. 314 p.
- Vimal SR, Singh JS, Arora NK, Singh S. 2017. Soil-plant-microbe interactions in stressed agriculture management : A Review. *Pedosphere*, 27: 177-192.
- Viruel E, Erazzú LE, Calsina LM, Ferrero MA, Lucca ME, Siñeriz F. 2014. Inoculation of maize with phosphate solubilizing bacteria : effect on plant growth and yield. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 14. 819-831.
- Viruel E, Lucca ME, Siñeriz F. 2011. Plant growth promotion traits of phosphobacteria isolated from Puna, Argentina. *Arch Microbiol*. 193: 489-496.
- Vodnik D, Grcman H, Macek I, van Elteren JT, Kovacevic M 2008. The contribution of glomalin related soil protein to Pb and Zn sequestration in polluted soil. *Science of the Total Environment*. 392:130-136.
- Waechter-Kristensen B, Caspersen S, Adalsteinsson S, Sundin P, Jensen PJC. 1999. Organic compounds and micro-organisms in closed hydroponic culture: occurrence and effects on plant growth and mineral nutrition. *Acta Horticulturae*. 1: 197-204.
- Wehner J, Antunes PM, Powell JR, Mazukatow J, Rillig MC. 2010. Plant pathogen protection by arbuscular mycorrhizas: a role for fungal diversity? *Pedobiologia*. 53: 197-201.
- Wei Y, Wei Z, Cao Z, Zhao Y, Zhao X, Lu Q, Zhang X. 2016. A regulating method for the distribution of phosphorus fractions based on environmental parameters related to the key phosphate-solubilizing bacteria during composting. *Bioresource Technology*. 211: 610-617.
- Wills R, McGlasson B, BGraham D, Joyce D. 1998. Postharvest: an introduction to the physiology and handling of fruit, vegetables and ornamentals. CAB International, Nueva York. 262 p.

- Witham FH, Blaydes BF, Devlin RM. 1971. Experiments in plant physiology, Van Nostrand Reinhold, New York, USA, pp 167-200.
- Woitke M, Schitzler WH. 2005. Biotic stress relief on plants in hydroponicsystems. *Acta Horticulturae*. 697: 557-565.
- Wu F, Wang W, Ma Y, Liu Y, Ma X, An L. 2013. Prospect of beneficial microorganisms applied in potato cultivation for sustainable agriculture. *African Journal of Microbiology Research*. 7: 2150-2158.
- Xie H, Pasternak JJ, Glick BR. 1996. Isolation and characterization of mutants of the plant growth-promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2 that overproduce indoleacetic acid. *Current Microbiology*. 32: 67-71.
- Xie X, Weng B, Cai B, Dong Y, Yan C. 2014. Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation and phosphorus supply on the growth and nutrient uptake of *Kandelia obovate* seedlings in autoclaved soil. *Applied Soil Ecology* 75:162-171.
- Xiong D, Chen J, Yu T, Gao W, Ling X, Li Y. 2015. SPAD-based leaf nitrogen estimation is impacted by environmental factors and crop leaf characteristics. *Scientific Reports*. 5: 1-12.
- Xun F, Xie B, Liu S, Guo C. 2014. Effect of plant growth-promoting bacteria (PGPR) and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) inoculation on oats in saline-alkali soil contaminated by petroleum to enhance phytoremediation. *Environmental Science and Pollution Research*. 22: 598-608.
- Yaseen T, Burni T, Hussain F. 2012. Effect of arbuscular mycorrhizal inoculation on nutrient uptake, growth and productivity of chickpea (*Cicer arietinum*) varieties. *International Journal of Plant Production*. 3:334-345.
- Yogev A, Raviv M, Hadar Y, Cohen R, Katan J, 2006. Plant waste-basedcomposts suppressive to diseases caused by pathogenic *Fusarium oxysporum*. *European Journal of Plant Pathology*. 116: 267-278.
- Youssef MM, Eissa MF. 2014. Biofertilizers and their role in management of plant parasitic nematodes. A review. *Journal of Biotechnology and Pharmaceutical Research* 5: 1-6.

- Yu X, Liu X, Zhu T, Liu G, Mao C. 2012. Co-inoculation with phosphate-solubilizing and nitrogen-fixing bacteria on solubilization of rock phosphate and their effect on growth promotion and nutrient uptake by walnut. *European Journal of Soil Biology*. 50: 112-117.
- Zewdie Y, Bosland PW. 2000. Evaluation of genotype, environment, and genotype-by-environment interaction for capsaicinoids in *Capsicum annuum* L. *Euphytica*. 111: 185-190.
- Zhang M, Tang S, Huang X, Zhang F, Pang Y, Huang Q, Yi Q. 2014. Selenium uptake, dynamic changes in selenium content and its influence on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in rice (*Oryza sativa* L.). *Environmental and Experimental Botany*. 107: 39-45.
- Zhang W, Tu JC, 2000. Effect of ultraviolet disinfection of hydroponic solution on *Pythium* root rot and non-target bacteria. *European Journal of Plant Pathology*. 106: 415-421.
- Zhao R, Guo W, Bi N, Guo J, Wang L, Zhao J, Zhang J. 2015. Arbuscular mycorrhizal fungi affect the growth, nutrient uptake and water status of maize (*Zea mays* L.) grown in two types of coal mine spoils under drought stress. *Applied Soil Ecology*. 88: 41-49.
- Zubek S, Turnau K, Tsimilli-Michael M, Strasser RJ. 2009. Response of endangered plant species to inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi and soil bacteria. *Mycorrhiza*. 19: 113-123.

## ANEXO I.

De: Revista Argentina de Microbiología <[eesserver@eesmail.elsevier.com](mailto:eesserver@eesmail.elsevier.com)>

Fecha: 3 de marzo de 2017, 6:05

Asunto: RAM-D-15-00128R5: decisión de los editores / editorial decision

Para: [rferreracerrato@gmail.com](mailto:rferreracerrato@gmail.com)

Apreciado Dr. Ferrera-Cerrato:

Le comunicamos que su manuscrito "Crecimiento, y eficiencia fotoquímica del fotosistema II en plántulas de dos variedades de *Capsicum annuum* L. inoculadas con rizobacterias y hongos micorrizicos arbusculares. Growth and photochemical efficiency of photosystem II in seedlings of two varieties of *Capsicum annuum* L. inoculated with rhizobacteria and arbuscular mycorrhizal fungi" (Ref. RAM-D-15-00128R5) ha sido aceptado para su publicación en Revista Argentina de Microbiología.

Recuerde que en su momento le remitiremos las pruebas de autor en formato pdf a esta misma dirección electrónica.

Asimismo, le recordamos, como se especifica en las normas de publicación de la revista <http://apps.elsevier.es/ficheros/NormOrga/372normas.pdf>, que tras la aceptación del artículo, los autores deberán asumir parte de los costos de gestión, composición y edición de dicha publicación, tal y como determina la Asociación Argentina de Microbiología (AAM). LA PUBLICACIÓN SOLO SE REALIZARÁ PREVIA RECEPCIÓN DEL ARANCEL ESTIPULADO Y LOS COSTOS A ABONAR SERÁN LOS VIGENTES AL MOMENTO DE LA PUBLICACIÓN DEL ARTÍCULO.

En los próximos días la Asociación Argentina de Microbiología se contactará con Uds. para coordinar el pago del mismo.

En el caso de que no esté dispuesto a asumir esos costos de publicación, le rogamos que lo comunique inmediatamente contactando con la Asociación Argentina de Microbiología: [ram@aam.org.ar](mailto:ram@aam.org.ar)

Reciba un cordial saludo,