



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE EDAFOLOGÍA

APLICACIÓN DE COMPOST Y MICROORGANISMOS BENÉFICOS EN CHILE POBLANO (*Capsicum annum* L.)

MARDONIO BARUC MARTÍNEZ GUZMÁN

T E S I S
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO, MÉXICO

2022



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

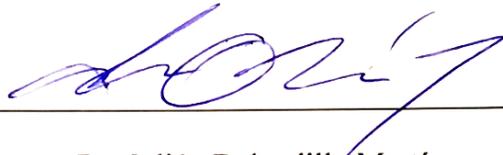
INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

La presente tesis titulada: **Aplicación de compost y microorganismos benéficos en chile poblano (*Capsicum annuum* L.)**, realizada por el estudiante: **Mardonio Baruc Martínez Guzmán**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS
EDAFOLOGÍA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



Dr. Julián Delgadillo Martínez

ASESOR



Dr. Joel Velasco Velasco

ASESOR



Dr. Juan José Almaraz Suárez

Montecillo, Texcoco, Estado de México, México, julio de 2022.

APLICACIÓN DE COMPOST Y MICROORGANISMOS BENÉFICOS EN CHILE POBLANO (*Capsicum annuum* L.)

Mardonio Baruc Martínez Guzmán, M.C.
Colegio de Postgraduados, 2022

RESUMEN

El chile poblano (*Capsicum annuum* L.) es uno de los cultivos más importantes en México. Los rendimientos del chile aumentan con el uso de fertilizantes químicos, por lo cual, los costos de producción se elevan. Una de las opciones para disminuir estos costos es con el uso de compost, a fin de aportar los nutrimentos que la planta necesita y mejorar las características del suelo. Otra alternativa es la inoculación con microorganismos que complementan la aportación de nutrientes del compost a los cultivos. Tal es el caso de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV) y hongos micorrízicos arbusculares (HMA). En este estudio se evaluó la respuesta del chile poblano a la aplicación de compost (C), RPCV (B) y HMA. En un experimento de invernadero se estableció un arreglo factorial; siendo el primer factor la inoculación de plántulas de chile poblano con RPCV. El segundo factor fue la inoculación de HMA y el tercero la aplicación de C. El factor más importante para obtener plantas más altas fue la aplicación de C. El factor más importante para el aumento en el peso seco de la raíz, de la parte aérea y del contenido de nutrientes en la parte aérea fue la aplicación de C junto con HMA y RPCV. En los tratamientos con HMA el crecimiento radical fue reducido, similar al testigo; no obstante, se presentó crecimiento vigoroso en la parte aérea. Por medio de microscopía de fluorescencia se determinó que las bacterias transformadas con proteínas fluorescentes colonizaron el tejido epidérmico de las raíces del chile poblano a los 135 días después de la siembra y se contabilizaron poblaciones entre 14 y 21 x10⁵ UFC g⁻¹ de suelo rizosférico. El mayor volumen de frutos se presentó en los tratamientos C, B+C y B+HMA+C; los cuales superaron a los tratamientos restantes. Los resultados indican que con la aplicación de C y la inoculación de HMA y RPCV se pueden tener plantas con mayor crecimiento, lo que representa una biotecnología de gran potencial dentro de la producción agrícola amigable con el ambiente.

Palabras clave: Compost, RPCV, HMA, chile

**APLICACION OF COMPOST AND BENEFICIAL MICROORGANISMS IN POBLANO
PEPPER (*Capsicum annuum* L.)**

**Mardonio Baruc Martínez Guzmán, M.C.
Colegio de Postgraduados, 2022**

ABSTRACT

The poblano pepper (*Capsicum annuum* L.) is one of the most important crops in Mexico. The pepper yield is increased using chemical fertilizers and then, production costs rise. One of the options to reduce these costs is with the use of compost, in order to provide the nutrients that the plant needs and improve the characteristics of the soil. Another alternative is inoculation with microorganisms that complement the supply of nutrients from the compost to the crops through their function. Such is the case of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). In this study, the response of the poblano pepper to the application of compost (C), PGPR (B) and AMF was evaluated. In a greenhouse experiment, a factorial arrangement was established; the first factor being the inoculation of poblano pepper seedlings with RPCV. The second factor was the inoculation of AMF and the third was the application of compost. The most important factor in getting taller plants was the application of C. The most important factor for the increase in the dry weight of the root, the aerial part and the nutrient content in the aerial part was the application of C together with AMF y PGPR. In the treatments with AMF, root growth was reduced, similar to the control; however, vigorous growth occurred in the aerial part. By means of fluorescence microscopy, it was determined that the bacteria transformed with fluorescent proteins colonized the cortical tissue of the roots 135 days after sowing and populations between 14 and 21 x10⁵ CFU g⁻¹ of rhizospheric soil were counted. The largest volume of fruits was presented in treatments C, B+C and B+AMF+C; which outperformed the remaining treatments. The results indicate that with the application of compost and beneficial microorganisms, plants with better growth and development can be obtained, which represents a biotechnology of great potential within environmentally friendly agricultural production.

Key words: Compost, PGPR, AMF, pepper.

AGRADECIMIENTOS

Al Colegio de Posgraduados (COLPOS), por permitirme ser parte de la comunidad estudiantil de uno de los colegios más importantes de México. Ya que una de las metas de mi vida fue ser estudiante del Excelente Colegio de Posgraduados.

Al CAMPUS Montecillo, por recibirme en sus instalaciones, en las cuales recibí los conocimientos y formación de mi posgrado.

Al POSGRADO de Edafología, por darme la oportunidad de continuar con mis estudios de posgrado.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por proporcionarme los recursos económicos para poder realizar mis estudios de Posgrado, sin los cuales no lo habría logrado.

Al Doctor Julián Delgadillo Martínez por su orientación, confianza, paciencia, colaboración y apoyo en mi formación profesional y elaboración de tesis. Y sobre todo por su amistad.

Al Doctor Joel Velasco Velasco por su valioso apoyo y amistad.

Al Doctor Juan José Almaraz Suárez por su apoyo en laboratorio y en la revisión de tesis.

Al Doctor Marco Polo Carballo Sánchez por su apoyo en la revisión de tesis.

A mis profesores que me orientaron en este proceso de formación del Posgrado, de verdad que me sentí emocionado al conocer y escuchar las clases de investigadores que, solo conocía de leer sus investigaciones y libros escritos.

DEDICATORIA

A mi esposa, María del Rosario Chávez Muñoz, por ser mi compañera de vida y ser la persona que me impulsa a conseguir mis metas, ya que sin su apoyo no ingresaría al posgrado.

A mis hijos Samantha, Baruc, Julia Jazmín, Jennifer Margarita y Carlitos, por ser soportes de en la gran familia que somos.

A mis padres Ranulfo Martínez Rosas y Margarita Guzmán Huerta por siempre apoyarme y motivarme con mis estudios sin importar las circunstancias.

A mis hermanos Evodio, Viliulfo, Bernardita, Gisela y Margarita; por ser un gran respaldo en cada momento de mi vida.

A mi nieto Adriel, por darme alegrías y enojos con sus travesuras que quedaran grabados en mi mente.

A mi suegra Julia Muñoz Pérez [†] que siempre nos apoyó cuando la necesitamos.

A mis compañeros estudiantes y profesores, que me orientaron y apoyaron en esta etapa de mi vida.

CONTENIDO

RESUMEN.....	iii
ABSTRACT.....	iv
AGRADECIMIENTOS.....	v
DEDICATORIA.....	vi
LISTAS DE CUADROS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	x
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. OBJETIVOS E HIPÓTESIS.....	4
III. REVISIÓN DE LITERATURA (opcional).....	5
3.1. El cultivo del chile (<i>Capsicum annuum</i>).....	5
3.2. Descripción botánica del chile.....	6
3.3. Distribución del chile en México.....	7
3.4. Ciudades o pueblos con nombre derivado del chile.....	8
3.5. Microorganismos del suelo.....	11
3.5.1. Hongos micorrízicos arbusculares.....	13
3.5.2. Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal.....	15
3.5.3. Beneficios de la interacción HMA y RPCV en las plantas.....	18
3.5.4. Vermicompost y microorganismos.....	19
IV. MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
4.1. Localización del sitio experimental.....	21
4.2. Material vegetal.....	21
4.3. Microorganismos utilizados.....	22
4.3.1. Aislamiento de bacterias fijadoras de N atmosférico.....	22
4.3.2. Inserción de un gen de fluorescencia en la RPCV, <i>Bacillus pumilus</i> R44.....	24
4.3.3. Preparación del inóculo bacteriano.....	29
4.4. Trasplante de plántulas a macetas.....	29
4.4.1. Compost utilizado.....	31
4.5. Riego.....	32
4.6. Tratamientos y diseño experimental.....	32

4.7	Variables evaluadas en plantas en maceta	33
4.7.1	Altura de la planta.....	33
4.7.2	Número de hojas verdaderas.....	34
4.7.3	Aparición del primordio floral.....	34
4.8	Variables evaluadas después de la cosecha	34
4.8.1.	Peso seco de la raíz	34
4.8.2.	Peso seco de la parte aérea	34
4.8.3.	Volumen de los frutos	34
4.8.4.	Nutrientes en parte aérea vegetal	35
4.8.5.	Conteo de bacterias inoculadas presentes en la rizósfera.....	35
4.8.6.	Observación de bacterias transformadas en la raíz del chile por microscopía de fluorescencia	35
4.8.7.	Colonización micorrízica	36
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN GENERAL.....		37
5.1	Variables evaluadas en plantas en maceta	38
5.1.1.	Altura de la planta.....	38
5.1.2.	Número de hojas verdaderas.....	40
5.1.3.	Aparición del primordio floral.....	41
5.2.	Variables evaluadas después de la cosecha	42
5.2.1.	Peso seco de la raíz	42
5.2.2.	Peso seco de la parte aérea	44
5.2.3.	Volumen de los frutos	46
5.2.4.	Nutrientes en parte aérea vegetal	46
5.2.5.	Conteo de bacterias en la rizósfera.....	49
5.2.6.	Observación de bacterias transformadas en la raíz del chile por microscopía de fluorescencia	50
5.2.7.	Colonización micorrízica	55
5.2.8.	Fotografías de diferencias visuales entre tratamientos.....	57
VI. CONCLUSIÓN.....		58
VII.	LITERATURA CITADA.....	59

LISTAS DE CUADROS

Cuadro 1 Clasificación botánica del género Capsicum	6
Cuadro 2 Localidades cuyos nombres se relacionan con el chile (Cyphers et al., 2009).....	10
Cuadro 3. Medio de cultivo con una fuente combinada de carbono (Rennie, 1981).	22
Cuadro 4. Análisis nutrimental (N y P) de compost.....	32
Cuadro 5. Número de hojas de las plantas de chile poblano al momento de la cosecha (10 SDT).....	41
Cuadro 6. Tamaño de la población de bacterias totales, fijadoras de N atmosférico y R44 inoculada en la rizósfera de chile poblano al final del experimento.	50

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diversidad de chiles en México. (Modificado de Aguilar-Rincón et al., 2010).	8
Figura 2. Chiles secos a los cuales se les extrajo (300 semillas en promedio de cada uno) la semilla de chile poblano criollo miahuateco para establecer el experimento.	21
Figura 3. Caja de Petri de la dilución 10^{-3} de la que se tomó colonia de bacteria fijadora de nitrógeno que presentó mayor crecimiento en medio líquido.	24
Figura 4. Mapa del vector (plásmido) pDsRED-Express de 3.3 Mpb utilizado en la transformación de las bacterias.	25
Figura 5. Molde del gel para la cámara de electroforesis utilizada y posición del peine para formación de pozos de colocación de la muestra de ADN.	28
Figura 6. Cámara de electroforesis. La corriente va del polo negativo (negro) al positivo (rojo).....	28
Figura 7. Contenedor utilizado para la propagación de los HMA proporcionado por el Área de Microbiología	30
Figura 8. Vista general del tamaño de las plantas de chile trasplantadas en maceta de plástico	30
Figura 9. Esporas de HMA en raicillas de pasto (<i>Lolium perenne</i>) clareadas con KOH, teñidas con azul de tripano y observadas al microscopio.	31
Figura 10. Vista general del experimento en invernadero.	33
Figura 11. Vista general de cepellón y charolas de germinación conteniendo plántulas sin inocular (izquierda) e inoculadas con el consorcio bacteriano (derecha).	37
Figura 12. Altura semanal acumulada de las plantas de chile poblano. SDT= semanas después del trasplante. *= Diferencias significativas entre tratamientos (Tukey, $\alpha=0.05$). C= compost, B= bacterias, HMA= hongos micorrízicos arbusculares.	39
Figura 13. Altura ganada del trasplante al final del experimento por las plantas de chile poblano. Líneas verticales representan diferencia mínima significativa. No existen diferencias significativas entre tratamientos con la misma letra, Tukey, $\alpha=0.05$). B= bacterias, C= compost y HMA= hongos micorrízicos arbusculares	40
Figura 14. Número de primordios florales en las plantas de chile poblano. C= compost, B= bacterias, HMA= hongos micorrízicos arbusculares.	42

- Figura 15.** Peso seco de la raíz de chile poblano. Líneas verticales representan diferencia mínima significativa. Columnas con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $\alpha=0.05$). C= compost, B= bacterias, HMA= hongos micorrízicos arbusculares..... 44
- Figura 16.** Peso seco de la parte aérea de plantas de chile al final del experimento, 135 DDS. Líneas verticales representan diferencia mínima significativa. Existe diferencia significativa entre columnas de tratamientos con letras diferentes (Tukey, $\alpha=0.05$). C= compost, B= bacterias, HMA= hongos micorrízicos arbusculares. 45
- Figura 17.** Volumen de los frutos de chile poblano al final del experimento, 135 DDS. Líneas verticales representan diferencia mínima significativa. Existe diferencia significativa entre columnas de tratamientos con letras diferentes (Tukey, $\alpha=0.05$). C= compost, B= bacterias, HMA= hongos micorrízicos arbusculares. 46
- Figura 18.** Contenido de N en la parte aérea de plantas de chile poblano al final del experimento, 135 DDS. Líneas verticales representan diferencia mínima significativa. Existe diferencia significativa entre columnas de tratamientos con letras diferentes (Tukey, $\alpha=0.05$). C= compost, B= bacterias, HMA= hongos micorrízicos arbusculares..... 48
- Figura 19.** Contenido de P en la parte aérea de plantas de chile poblano al final del experimento, 135 DDS. Líneas verticales representan diferencia mínima significativa. Existe diferencia significativa entre columnas de tratamientos con letras diferentes (Tukey, $\alpha=0.05$). C= compost, B= bacterias, HMA= hongos micorrízicos arbusculares..... 49
- Figura 20.** Micrografías de distintos segmentos de raíces de plantas de chile poblano del tratamiento inoculado con bacterias (B), a los 135 DDS, tomadas con la técnica de microscopia de campo claro (izquierda) y mismo campo de observación con la técnica de epifluorescencia (derecha). Se indica el aumento de cada micrografía. 51
- Figura 21.** Micrografías de distintos segmentos de raíces de plantas de chile poblano del tratamiento inoculado con bacterias y hongos micorrízicos arbusculares (B+HMA), a los 135 DDS, tomadas con la técnica de microscopia de campo

claro (izquierda) y mismo campo de observación con la técnica de epifluorescencia (derecha). Se indica el aumento de cada micrografía.	52
Figura 22. Micrografías de distintos segmentos de raíces de plantas de chile poblano del tratamiento con compost e inoculado con bacterias y hongos micorrízicos arbusculares (B+HMA+C), a los 135 DDS, tomadas con la técnica de microscopia de campo claro (izquierda) y mismo campo de observación con la técnica de epifluorescencia (derecha). Se indica el aumento de cada micrografía.	53
Figura 23. Micrografías de distintos segmentos de raíces de plantas de chile poblano del tratamiento con compost e inoculado con bacterias y compost (B+C), a los 135 DDS, tomadas con la técnica de microscopia de epifluorescencia. Se indica el aumento de cada micrografía.	54
Figura 24. Micrografías de distintos segmentos de raíces de plantas de chile poblano del testigo, a los 135 DDS, tomadas con la técnica de microscopia de campo claro (izquierda) y mismo campo de observación con la técnica de epifluorescencia (derecha). Se indica el aumento de cada micrografía.	55
Figura 25. Colonización micorrízica en raíces de chile al final del experimento, 135 DDS. Líneas verticales representan diferencia mínima significativa. Columnas de tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $\alpha=0.05$). C= compost, B= bacterias, HMA= hongos micorrízicos arbusculares. Tratamientos no incluidos en la Figura no presentaron colonización micorrízica de las raíces.	56
Figura 26. Diferencias visuales entre tratamientos antes de cosecha	57

I. INTRODUCCIÓN

El aumento de la población y el consumo está colocando demandas sin precedentes sobre la agricultura y los recursos naturales; alrededor de mil millones de persona sufren de desnutrición crónica, mientras nuestros sistemas agrícolas están degradando simultáneamente la tierra, el agua, la biodiversidad y el clima a escala mundial (Foley *et al.*, 2011). Actualmente se han propuesto biotecnologías basadas en la utilización de productos orgánicos que mantienen la fertilidad sin alterar el microbioma del suelo (Pulido *et al.*, 2003). Entre estos productos están el compost y los biofertilizantes microbianos. Estos últimos tienen un efecto positivo en la fertilidad del suelo debido a que proporcionan nutrientes, materia orgánica, corrigen deficiencias y mantienen la dinámica del carbono, del nitrógeno y de otros nutrimentos del suelo. Además, el compost presenta liberación lenta de nutrientes, por lo que mejora las condiciones físicas, químicas y biológicas del suelo (Astier y Hollands, 2005; García-Ruíz *et al.*, 2008; Fliessbach *et al.*, 2007).

Los pimientos cultivados varían en tamaño, forma, pungencia y color, pero a menudo carecen de rasgos de resistencia y rendimiento (Naegele *et al.*, 2016). Los chiles y pimientos pertenecen al género *Capsicum* (familia Solanaceae), el cual representa uno de los grupos de especies más diversas y cultivadas en el mundo. *Capsicum* es nativa de América tropical y subtropical, siendo Bolivia, Brasil y México los países que concentran la mayor parte de la diversidad genética. Este género comprende más de 30 especies, siendo *C. annuum* la especie más cultivada y de importancia económica en el mundo (Perry y Flannery, 2007; Aguilar-Rincón *et al.*, 2010; Clement *et al.*, 2010; Wang y Bosland, 2006; USDA-ARS, 2011).

El chile (*Capsicum annuum*) es una planta de importancia mundial, como uno de los saborizantes más utilizados en la cocina (Aguilar *et al.*, 2010). En el año 2017, México tuvo una producción de 3.29 millones de toneladas de chile y pimientos, en una superficie de 160,438 has; ubicándose en segundo lugar a nivel mundial, sólo después de China Continental (FAOSAT, 2019); con un rendimiento promedio de 20.55 t ha⁻¹.

El chile ancho, mulato y miahuateco se encuentran en el grupo de chiles anchos. Los dos primeros se diferencian del tercero porque tienen presencia de un cajete pronunciado (hundimiento del pericarpio en la unión con el pedicelo). Es posible que el inicio de su cultivo sea en el estado

de Puebla. En estado inmaduro (color verde) son conocidos como chiles poblanos (Aguilar *et al.*, 2010).

Para aumentar los rendimientos en estos cultivos se sugiere mejorar aspectos como su adaptación a diversas regiones climáticas, desarrollo de genotipos con mayor producción, precoces, tolerantes a las enfermedades de raíz y con mejor calidad de fruto (Ramírez *et al.*, 1980).

La gran diversidad de microorganismos en los suelos es compleja, algunos pueden ser benéficos y otros pueden afectar negativamente el desarrollo de los cultivos. Entre los microorganismos benéficos destacan los hongos micorrízicos arbusculares (HMA), los cuales establecen una simbiosis denominada micorrízica con las raíces de aproximadamente el 80% de las plantas vasculares, como las solanáceas (Baum *et al.*, 2015).

Las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV) poseen varios mecanismos que estimulan el desarrollo de las plantas, mecanismos que involucran la producción de sustancias que actúan directamente sobre las células vegetales y provocan un aumento en el desarrollo de las mismas. También estas bacterias tienen influencia y gran participación en el reciclaje de nutrientes como nitrógeno y fósforo, son capaces de tomar formas no disponibles para la planta y transformarlas, hasta la obtención de formas asimilativas para las células vegetales (Camelo *et al.*, 2011).

México es uno de los países con mayor diversidad genética de *Capsicum* y es uno de los principales productores, superado solo por China (FAOSTAT, 2020). La producción estimada en el 2020 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, 2020). Las variedades más cultivadas en el país son chile jalapeño, mirasol, poblano, naheim, serrano, chilaca, bell pepper, pasilla, piquín, y chile habanero.

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 mercado actual demanda productos agrícolas inocuos, y el Chile no es la excepción, por lo que se deben producir frutos con alta calidad nutricional y ausencia de agroquímicos. Es por ello que los productores deben realizar una producción más orgánica, evitando la aplicación en exceso de pesticidas y fertilizantes químicos, y promover la recuperación de la fertilidad de los suelos con el uso de microorganismos benéficos y la aplicación de abonos orgánicos.

La presente investigación se realizó para evaluar el crecimiento del Chile poblano (*Capsicum annuum* L.) con la aplicación de compost, bacterias promotoras de crecimiento vegetal (RPCV) y hongos micorrízicos arbusculares (HMA); como una propuesta de producción amigable con el ambiente.

II. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

2.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de la aplicación de compost, rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (RPCV) y hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en el crecimiento de chile poblano.

2.2. Hipótesis general

La aplicación de compost, hongos micorrízicos arbusculares y rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal promueven el crecimiento de chile poblano.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

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

El chile ancho (*Capsicum annuum* L.) es uno de los más importantes en México, madura en color rojo y el chile mulato en color café oscuro. Ambos presentan un cajete pronunciado (hundimiento del pericarpio en la unión con el pedicelo). Probablemente se cultivaron inicialmente en el estado de Puebla, porque en estado inmaduro son conocidos como chiles poblanos (Aguilar-Rincón *et al.*, 210).

La demanda de nutrimentos durante el ciclo de cultivo del chile en kilogramos por tonelada de producto (kg t^{-1}) es la siguiente: nitrógeno (N) 2.4 – 4.0, fósforo (P_2O_5) 0.4 – 1.0, potasio (K_2O) 3.4 – 5.29, calcio (CaO) 0.55 – 1.80 y magnesio (MgO) 0.28 – 0.49 (Salazar-Jara y Juárez-López, 2013).

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 (Ben-Chaim *et al.*, 2006; Nava-Ochoa *et al.*, 2021) 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:

Cuadro 1 Clasificación botánica del género *Capsicum*

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 beige 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 (Moreno *et al.*, 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) muestran 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 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 Huatle, Costeño Rayado y de Agua (Aguilar-Rincón *et al.*, 2010).



Figura 1. Diversidad de chiles en México. (Modificado de Aguilar-Rincón et al., 2010).

3.4. Ciudades o pueblos con nombre derivado 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 en 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 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 pimientillo o chile picante que hace llorar, Tepintla, (Puebla) chilar de chiltepiquines, Chilhuacan (Atlixco Puebla) lugar de chileros. (Moreno-Rojas, 2013). Otros ejemplos se pueden observar en el Cuadro 2.

Cuadro 2 Localidades cuyos nombres se relacionan con el 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>chilacáxitl</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>cautla</i> “arboleda”: Arboleda de chiles
Chilchota	Michoacán	Del náhuatl <i>Chillitl</i> chile y <i>tlán</i> lugar: Lugar de chiles.
Chiltecpitlán (Tepintla)	Puebla	Chilar de chiltepiquines
Chilhuacan	Puebla	Lugar de los chileros
Chilacachapan (Chilacachapa)	Guerrero	Sobre el agua del <i>chilacáxitl</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>tlá</i> (abundancia): Donde abunda el pimiento o chile picante que hace llorar.

3.5. Microorganismos del suelo

El suelo es un ecosistema que contiene una gran diversidad de organismos, con características morfológicas y fisiológicas diversas. En el suelo habitan e interactúan todos los grupos microbianos, incluyendo, bacterias (incluidas las actinobacterias o actinomicetos), hongos, algas, protozoarios y virus; además de relacionarse con otros seres vivos como las plantas y la micro y mesofauna. La distribución y actividad de los microorganismos es afectada por las características físicas y químicas del suelo como pedregosidad, textura, temperatura, pH, contenido de humedad y materia orgánica, profundidad, tipos de horizontes y la existencia de otros seres vivos. Además, el tamaño de las poblaciones microbianas, su localización y su diversidad, es fuertemente modificada por el manejo agronómico, las prácticas de cultivo o por la contaminación.

En general, los microorganismos son más abundantes en los 30 cm más superficiales del suelo y, de manera particular, en la zona de la rizósfera. Sitio de influencia de las raíces y sus exudados. Los requerimientos nutricionales de los microorganismos del suelo van desde muy simples hasta altamente complejos. Existen microorganismos fotoautotróficos, como las cianobacterias y las algas; quimiolitotróficos, por ejemplo, las bacterias nitrificantes y oxidantes de azufre; y quimiorganotróficos o heterotróficos, representados por la mayoría de las bacterias, hongos y protozoos, mismos que participan en la mineralización de los compuestos orgánicos y el reciclaje de nutrimentos, lo que repercute en su disponibilidad para los vegetales superiores, así como en el proceso de humificación (Ramírez-Gama, *et al* 2020). En los estudios del suelo se da particular importancia a ciertos grupos fisiológicos con actividades específicas, como son: fijadores de nitrógeno, amonificantes, desnitrificantes, solubilizadores de fosfatos, oxidantes de compuestos azufrados, sulfato reductores, amilolíticos, celulolíticos, degradadores de hidrocarburos y rizobacterias promotoras del desarrollo vegetal, las cuales producen numerosas hormonas, sideróforos, antibióticos, enzimas anti-estrés y otros metabolitos (Gómez y Corlay, 2007, Bashan y de-Bashan, 2005).

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 (N₂O) (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 rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV) y los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) pueden ser inoculados como biofertilizantes debido a los diversos beneficios que estas proporcionan a su hospedante. Las RPCV 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 nutrimentos 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 RPCV 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.

3.5.1. Hongos micorrízicos arbusculares

En el suelo se establecen interacciones entre los organismos, como la que se presenta de tipo simbiótica mutualista, entre plantas y microorganismos. Esta asociación simbiótica desarrolla la micorriza, la cual es una estructura especializada, que contribuye en la adaptación y desarrollo de la planta (Hudson, 1992).

Un alto porcentaje de cultivos presenta simbiosis micorrízica. Se conocen dos tipos, que tienen importancia en procesos agrícolas y forestales: la micorriza de tipo arbuscular y la ectomicorriza (Malloch *et al.*, 1980). Las micorrizas arbusculares se encuentra en la mayoría de plantas angiospermas (mono y dicotiledóneas), anuales y perennes y algunos géneros de Gimnospermas. Las esporas del hongo son la principal fuente de inoculación en la raíz de la planta, sobreviviendo en el suelo, y cuando las condiciones son favorables, germinan y forman el micelio. El micelio crece y cuando entra en contacto con la raíz de la planta, forma un apresorio (órgano de fijación), colonizando el tejido interno de la raíz (Sánchez, 2007).

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) obtienen carbono de la planta, y la planta aumenta la eficiencia de absorción de nutrientes, gracias a la presencia del hongo (González *et al.*, 2008).

Los hongos formadores de micorriza arbuscular o micorrízicos arbusculares (HMA) se encuentran clasificados en el Phylum Glomeromycota (Schüßler *et al.*, 2001), el cual, está integrado por aproximadamente 244 especies distribuidas en 18 géneros. Además, existen 6 géneros declarados inciertos, de acuerdo con la propuesta de clasificación más reciente (Redecker *et al.*, 2013). Los HMA son uno de los grupos microbianos más importantes del suelo debido a su extensa masa y establecen relaciones bióticas determinantes para el equilibrio de los ecosistemas (Smith and Read, 2008). Los HMA habitan prácticamente en todos los ecosistemas terrestres y algunos subacuáticos, sean naturales o transformados, donde se asocian con las plantas y establecen interacciones complejas que, en la mayoría de los casos, son benéficas para el micro y para el macrosimbionte. Estos hongos forman extensas redes o estructuras de crecimiento activo,

las hifas, y de resistencia, las esporas; ambas pueden producirse al mismo tiempo en la rizosfera, la matriz del suelo y las raíces de las plantas hospedantes.

Los HMA son los componentes bióticos presentes en los ecosistemas terrestres, estableciendo fácilmente simbiosis con más del 80% de las especies de plantas terrestres (Smith and 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.

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 macros 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 nutrimentos 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 la tolerancia a la toxicidad de Al (Tawaraya *et al.*, 2006; Toljander *et al.*, 2007; 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).

En pruebas realizadas, determinaron que los HMA pueden entregar hasta el 80% de fósforo, el 25% de nitrógeno, el 10% de K, el 25% de Zn y el 60% de cobre, del total absorbido por la planta (Marshner y Dell, 1994).

3.5.2. Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal

Las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV) son un grupo de bacterias que coloniza las raíces de las plantas y promueve el crecimiento de la planta mediante la síntesis de hormonas de crecimiento, fijación de nitrógeno, producción de sideróforos y solubilización de fosfatos (Kumar *et al.*, 2016).

La utilización de RPCV en el cultivo puede disminuir el ataque de nemátodos, por lo que se puede obtener protección, mayor fertilidad del suelo y por tanto mejor crecimiento de las plantas, que conduzca a una agricultura sostenible. (Priyank *et al.*, 2019). Además, en combinación con HMA aumentó la resistencia de plantas de Chile al ataque de *Phytophthora capsici* (Leos *et al.*, 2019).

Los microorganismos que colonizan el área de la rizosfera generalmente son bacterias, algas, hongos, protozoos y actinomicetos, y algunos de ellos juegan un papel importante en la mejora del crecimiento de las plantas (Bhattacharyya y Jha, 2012; Saharan y Nehra, 2011). De las

diferentes poblaciones microbianas presentes en la rizosfera, las bacterias son las más abundantes (Kaymak, 2010). Varios géneros causan un efecto pronunciado sobre el crecimiento de las plantas y se conocen como rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV) (Kloepper y Schroth, 1978; Nadeem *et al.*, 2010).

Estos microorganismos generalmente existen cerca de las raíces debido a la presencia de exudados de la raíz, que utilizan como fuente de nutrientes para su crecimiento y pueden depender de ellos para su supervivencia (Glick *et al.*, 1997; Doornbos *et al.*, 2012; Phillips *et al.*, 2008), estas bacterias son más versátiles en la transformación, movilización, solubilización de los nutrientes en comparación con las bacterias de vida libre del suelo (Hayat *et al.*, 2010).

Las RPCV son atraídas por quimiotaxis basada en compuestos presentes en los exudados radicales. Algunas bacterias pueden penetrar la raíz, por ejemplo: *Azospirillum* spp., pueden incluso llegar a penetrar y colonizar los espacios intercelulares, pero no forman estructuras especializadas como ocurre con las leguminosas. Dentro de las bacterias promotoras de crecimiento encontramos a las especies pertenecientes a los géneros: *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Xanthomonas*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Acetobacter*, *Burkholderia* y *Bacillus* (Barea *et al.*, 2005).

Las RPCV afectan el crecimiento de las plantas, de forma directa mediante el suministro de determinados compuestos, que facilitan la asimilación de nutrientes del suelo, o bien pueden actuar de forma indirecta al evitar los efectos deletéreos de organismos fitopatógenos (Ahemad y Kibret., 2014; Glick, 2010; Glick *et al.*, 1995).

Efectos benéficos de las RPCV

Las RPCV pueden provocar cambios drásticos en el crecimiento de las plantas al producir reguladores de crecimiento y facilitar la absorción de nutrientes del suelo (Zahir *et al.*, 2004). Además, muchas rizobacterias pueden mejorar la tolerancia de las plantas contra la salinidad, sequía, las inundaciones y toxicidad por metales pesados y, por lo tanto, permiten que las plantas puedan sobrevivir en condiciones ambientales desfavorables (Glick, 2010; Ma *et al.*, 2011; Nadeem *et al.*, 2007; Sandhya *et al.*, 2009).

Algunos de los mecanismos que usan las RPCV para promover el crecimiento de las plantas son: fijación de nitrógeno, solubilización de fosfatos, producción de sideróforos, producción de sustancias reguladoras de crecimiento y ácidos orgánicos, así como la liberación de enzimas como ACC-desaminasa, quitinasa y glucanasa (Berg, 2009; Glick *et al.*, 2007; Contreras-Cornejo *et al.*, 2009; Gamalero *et al.*, 2004; Hayat *et al.*, 2010; Segarra *et al.*, 2009;) y de sustancias tales como exopolisacáridos que ayudan a las plantas a resistir condiciones adversas (Ashraf *et al.*, 2004; Glick *et al.*, 2007; Sandhya *et al.*, 2009).

La eficiencia de las RPCV depende de las características de la planta-huésped y del suelo (Gamalero *et al.*, 2010), así mismo promueven el crecimiento a través de varios mecanismos directos e indirectos. La promoción del crecimiento directo se lleva a cabo a través de la producción de compuestos benéficos para las plantas hospedantes y por la facilitación de la absorción de los nutrientes del suelo, así como por la fijación de nitrógeno, solubilización de fosfato, producción de sideróforos y fitohormonas (Ahemad y Kibret., 2014; Kloepper *et al.*, 1987; Patten y Glick, 2002).

La promoción del crecimiento indirecto se produce cuando las RPCV previenen o reducen algunos efectos nocivos de patógenos de las plantas por varios mecanismos (Ahemad y Kibret., 2014; Glick, 2012; Glick y Bashan, 1997). Estos incluyen la inhibición de patógenos por la producción de sustancias o mediante el aumento de la resistencia de la planta huésped frente a organismos patógenos (Cartieaux *et al.*, 2003). Por ejemplo, las RPCV pueden producir metabolitos que reducen la población de patógenos y/o producir sideróforos que reducen la disponibilidad de hierro para ciertos patógenos de la planta (Bhattacharyya y Jha, 2012). Del mismo modo las RPCV pueden también aumentar la resistencia de las plantas contra las enfermedades haciéndolas menos vulnerables al ataque de fitopatógenos (Lugtenberg y Kamilova, 2009; Saravanakumar *et al.*, 2007).

Las RPCV también son catalogadas como agentes de control biológico de patógenos al ser antagonistas e inductoras de resistencia sistémica (Van Loon *et al.*, 1998; Weyens *et al.*, 2009). Las RPCV con potencial en agricultura deben conjugar tres características: ser capaces de colonizar la raíz, sobrevivir y multiplicarse en los micronichos asociados a la superficie de la raíz, lugar donde compiten con la microbiota nativa y donde son capaces de estimular crecimiento vegetal (Klopper, 1994). Las RPCV y los HMA son útiles para mejorar el crecimiento de las

plantas, particularmente en ambientes estresantes. Varios estudios han demostrado que la aplicación combinada de RPCV y HMA podría tener un potencial en el mejoramiento de la agricultura (Denton, 2007; Najafi *et al.*, 2012; Ordoorkhani *et al.*, 2010).

Bacterias fijadoras de nitrógeno

En la naturaleza se encuentran microorganismos fijadores de nitrógeno, los cuales se dividen en dos tipos: simbióticos, los que fijan el nitrógeno en asociación con plantas, leguminosas principalmente; y los no simbióticos o de vida libre, que no necesitan formar simbiosis con las plantas para proporcionar compuestos nitrogenados, los cuales aprovechan las plantas.

La mayoría de plantas de la familia de las leguminosas (Fabaceae) pueden fijar nitrógeno atmosférico a través de bacterias simbióticas, denominadas rizobias, en estructuras formadas en las raíces de las plantas llamados nódulos bacterianos (Andrews and Andrews, 2017).

La fijación biológica del nitrógeno (FBN) por bacterias diazotróficas (fijadoras de nitrógeno) ha contribuido al incremento del rendimiento en gran variedad de cultivos, reduciendo la necesidad de fertilización nitrogenada y disminuyendo la emisión de gases de efecto invernadero como el N₂O (óxido nitroso), obteniendo, por lo tanto, beneficios tanto económicos y ambientales, haciendo una agricultura más sustentable y rentable (Lara *et al.*, 2007).

3.5.3. Beneficios de la interacción HMA y RPCV en las plantas

Las RPCV 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 RPCV no sólo benefician la colonización micorrízica, sino también las funciones adicionales de la absorción de nutrientes. Se ha observado que plantas inoculadas con RPCV 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 RPCV+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.*, 2009) se consideran otros factores funcionales de la actividad de las interacciones RPCV+HMA (Jansa *et al.*, 2013). Las interacciones RPCV 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 RPCV+HMA mejoran el funcionamiento de la rizósfera, mitigando el estrés de la planta a través de diversos mecanismos (Vimal *et al.*, 2017).

3.5.4. Vermicompost y microorganismos

Una gran cantidad de residuos orgánicos industriales se producen anualmente, los cuales pueden procesarse biológicamente para obtener abonos orgánicos. Las lombrices de tierra pueden ingerir y procesar la mayoría de estos residuos orgánicos (Sangwan *et al.*, 2008), acelerando su estabilización; estos productos orgánicos ricos en ácidos húmicos (Campitelli y Ceppi, 2008) y en microorganismos se denominan como vermicompost (Aguiar *et al.*, 2013; Arancon *et al.*, 2004).

El vermicompost es una fuente de fitohormonas, vitaminas, proteínas y de fracciones húmicas (Ulle *et al.*, 2004). Debido a su alta actividad biológica y química el vermicompost es utilizado en suelos con problemas de contaminación por metales pesados, hidrocarburos aromáticos policíclicos y herbicidas, influyendo en la recuperación de la fertilidad (Contreras-Ramos *et al.*, 2007; Tarley y Arruda, 2004; Tejada *et al.*, 2010). Otros trabajos han demostrado su utilización como vehículo para producir biofertilizantes (Gutiérrez-Miceli *et al.*, 2008; Padmavathiamma *et al.*, 2008). El vermicompost contiene hasta 8×10^7 unidades formadoras de colonias (UFC) de bacterias, 2.2×10^6 UFC de actinomicetos y 5.1×10^4 UFC de hongos (Durán y Henríquez 2007). Se ha comprobado que el vermicompost, HMA y las RPCV en etapas de trasplante ayudan en prevenir algunas enfermedades de la raíz y evitan el estrés causado por heridas o cambios bruscos de temperatura y humedad.

El vermicompost influye positivamente en la colonización de las raíces por los HMA. Además, los HMA favorecen el crecimiento de las colonias de bacterias, las plantas al ser

inoculadas con estos dos microorganismos registran mayor absorción de nutrientes, mayor crecimiento y número de flores (López-Moctezuma *et al.*, 2005; Terry y Leyva, 2006). Gómez *et al.* (2008), afirman que el uso de vermicompost en el cultivo de chile tiene un efecto positivo en el desarrollo de la planta y se ve reflejado en el aumento de altura con 48%, los tallos fueron más gruesos, la floración se adelanta hasta en 27% y el rendimiento se incrementa.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Localización del sitio experimental

El experimento se realizó en el invernadero y laboratorios pertenecientes al Área de Microbiología de suelos, del Colegio de Posgraduados *Campus* Montecillo, Texcoco, estado de México. El invernadero cuenta con cubierta de vidrio.

4.2. Material vegetal

Se utilizó semilla criolla de chile poblano tipo miahuateco, la cual fue obtenida de la localidad de la Purísima de Hidalgo, municipio de Tecamachalco, en el estado mexicano de Puebla. En la Figura 2 se aprecian los chiles secos que aportaron la semilla.



Figura 2. Chiles secos a los cuales se les extrajo (300 semillas en promedio de cada uno) la semilla de chile poblano criollo miahuateco para establecer el experimento.

Para la siembra, las semillas se desinfectaron con una solución de cloro al 5% durante 20 min y posteriormente se lavaron con agua corriente. El 25 de marzo de 2021, las semillas se pusieron a germinar en tres charolas negras de plástico de 55 cavidades, una semilla por cavidad. El sustrato que se empleó fue peat moss (turba); el cual fue previamente esterilizado por calor húmedo durante 1 h, a una presión de 18 lbs plg⁻².

Una vez sembradas las semillas, las charolas se colocaron en el invernadero del Área de Microbiología del Posgrado de Edafología, Colegio de Postgraduados, *Campus* Montecillo. Al día 21 de abril. A los 27 días después de la siembra (DDS) se tuvo una emergencia del 100%; sin embargo, debido a la infestación por un gusano en el sustrato, el cual provocó daños en las raíces, se tuvieron pérdidas del 10% de las plántulas.

4.3. Microorganismos utilizados

4.3.1. Aislamiento de bacterias fijadoras de N atmosférico

Las bacterias fijadoras de N fueron aisladas del compost, mediante diluciones decimales y siembra en medio de cultivo sólido con una fuente combinada de carbono (Rennie, 1981, Cuadro 3).

Cuadro 3. Medio de cultivo con una fuente combinada de carbono (Rennie, 1981).

Reactivo	g L ⁻¹
Solución "A"	
Agua destilada	900 mL
K ₂ HPO ₄ (Fosfato de potasio dibásico)	0.8
KH ₂ PO ₄ (Fosfato de potasio monobásico)	0.2
NaCl (Cloruro de Na)	0.1
Na ₂ Fe EDTA (Quelato de Fe y Na)	0.028
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O (Molibdato de Na dihidratado)	0.025
Extracto de levadura	0.05
Manitol	5
Sacarosa	5
Lactato de sodio	0.5 mL
Agar	15
pH	7
Solución "B"	
Agua destilada	100 mL
MgSO ₄ (Sulfato de magnesio)	0.2
CaCl ₂ ·2H ₂ O (Cloruro de Ca dihidratado)	0.06
Biotina	0.005
Ácido p-Aminobenzoico	0.1

Para realizar las diluciones decimales, en un frasco se colocan 10 g de compost con 90 mL de agua destilada estéril, se mezcla la suspensión, se rotula como 10^{-1} y se toma como base para realizar las diluciones decimales siguientes:

La dilución 10^{-2} se obtuvo agregando 1 mL de la solución inicial en un tubo de ensayo con 9 mL de agua destilada. Las siguientes diluciones (10^{-3} y 10^{-4}), se obtuvieron de la misma manera tomando como base la dilución anterior correspondiente.

De la dilución 10^{-3} y 10^{-4} , se realizó la siembra en cajas Petri. Se tomó una alícuota de 100 μ L y se colocó en caja Petri conteniendo medio sólido con fuente combinada de carbono (Cuadro 2), y con una barra de vidrio, previamente esterilizada con alcohol y la flama del mechero, se distribuyó por toda el área del medio de cultivo. Las cajas sembradas se incubaron a 28 °C durante 48 h. Una vez que se observó crecimiento bacteriano, se contó el promedio de colonias por dilución, obteniendo los valores entre 6.33 y 33.33 X 10^3 UFC g^{-1} de compost.

Para seleccionar la cepa fijadora de N a utilizar en la siguiente fase del experimento (Figura 3), se determinó la colonia que demostró el crecimiento más rápido en tubo de ensayo con medio de cultivo líquido de fuente combinada de carbono a las 24 h y determinación de absorbancia a una longitud de onda de 600 nm, en espectrofotómetro (HP Agilent Chemstation 8453 UV Vis). Esta cepa bacteriana se purificó mediante la siembra en estría cruzada, en el mismo medio de fuente combinada de carbono y se incubó a 28°C durante 48 h.



Figura 3. Caja de Petri de la dilución 10^{-3} de la que se tomó colonia de bacteria fijadora de nitrógeno que presentó mayor crecimiento en medio líquido.

4.3.2. Inserción de un gen de fluorescencia en la RPCV, *Bacillus pumilus* R44

Adicionalmente, se utilizó la cepa *Bacillus pumilus* R44, perteneciente a la colección del Área de Microbiología del Colegio de Posgraduados; la cual ha demostrado, en estudios previos, promover el crecimiento vegetal por fijación de N atmosférico y solubilización de fosfatos. Esta bacteria se marcó con el plásmido de fluorescencia pDsRED-Express (Takara Clontech Inc.), cuyo mapa génico se muestra en la Figura 4.

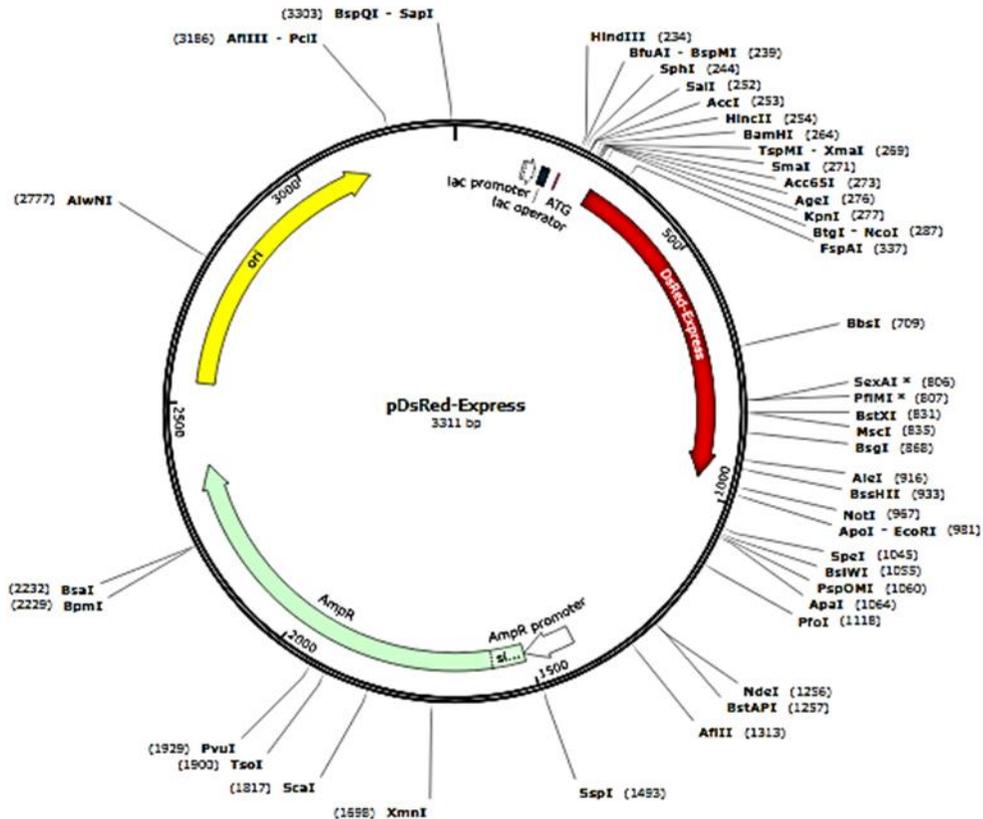


Figura 4. Mapa del vector (plásmido) pDsRED-Express de 3.3 Mpb utilizado en la transformación de las bacterias.

Preparación células competentes

Para el marcaje de la bacteria *Bacillus pumilus* R44, primero se prepararon las células competentes. En tubo eppendorf se colocaron 1.5 mL del caldo nutritivo y se centrifugó a 5,000 rpm durante 5 min a 4 °C. Al término del tiempo, el sobrenadante se descartó y se agregaron 0.75 mL de CaCl₂ 80 mmol + 0.75 mL de MgCl₂ 50 mmol, y se incubó en hielo por 30 min. Posteriormente, la suspensión se centrifugó a 5000 rpm durante 5 min a 4 °C, al término de la centrifugación se descartó el sobrenadante. Enseguida, 1.2 mL de CaCl₂ 80 mmol con 0.3 mL de glicerol se colocaron en el tubo y se disolvió el pellet suavemente. Por último, alícuotas de 200 µL se prepararon en tubos eppendorf estériles. Los tubos se guardaron en congelación a -70 °C.

Transformación bacteria *Bacillus pumilus* R44

Para la transformación de las bacterias, por choque térmico, se utilizó un tubo con células competentes previamente preparadas, al cual se agregaron 10 µL del vector (plásmido). Al control

negativo se agregaron 10 μL de agua destilada estéril. Se realizó una agitación suave con la pipeta y se metieron los tubos eppendorf en hielo durante 30 min. Al término del tiempo, se colocaron los tubos durante 30 s a 42 °C y se metieron en hielo por 1 min. Posteriormente, se agregó 500 mL de medio de cultivo SOB e incubaron por 1 h a 28°C con agitación a 100 rpm.

De la suspensión obtenida se tomaron 100 μL y se colocaron en cajas Petri con agar nutritivo + ampicilina (100 $\mu\text{g mL}^{-1}$). La suspensión restante se centrifugó a 5000 rpm durante 5 min, se descartó el sobrenadante y se sembró el concentrado bacteriano restante en cajas Petri con agar nutritivo, como medio sólido, más antibiótico. Finalmente, las cajas se mantuvieron en incubación por 48 h, verificando al término de la incubación el crecimiento de la bacteria transformada y su resistencia a la ampicilina.

Comprobación de la inserción del gen de fluorescencia

La comprobación de los genes que producen la fluorescencia de las bacterias transformadas se realizó mediante extracción de ADN plasmídico con el Kit ZymoPure Plasmid miniprep (Zymo Inc.) y observación del plásmido por electroforesis en gel de agarosa. El siguiente procedimiento se siguió para obtener el ADN plasmídico:

- En el tubo eppendorf se colocaron 400 μL de cultivo bacteriano (R44 transformada), centrifugó a 10,000 rpm por 1 min y se tiró el sobrenadante. Nuevamente, en el tubo se colocaron 400 μL de cultivo y disolvió el contenido, pegando en la parte baja del tubo con el dedo. 40 μL del reactivo Lysis Reagent (solución 1) se agregaron a la suspensión, se mezcló invirtiendo 10 veces hasta obtener una suspensión translúcida y se incubó por 2 min a temperatura ambiente.
- Una columna de retención se colocó dentro de otro tubo eppendorf, identificando las muestras correctamente. 500 μL de solución de preparación de columna (solución dos) se agregaron y se centrifugó por 30 s, descartando la solución colectada en el tubo.
- Al primer tubo (con solución lisis) se le agregaron 400 μL de la solución de unión (solución 3) y se mezclaron invirtiendo el tubo al menos 15 veces. Después, la solución se pasó a la columna y se centrifugó por 30 s y se descartó el sobrenadante.
- 700 μL de la solución de lavado wash solution (solución 4) se adicionaron a la columna, se centrifugó 30 s y se descartó lo colectado en el tubo. 200 μL de la solución de lavado

(solución 4) se colocaron en la columna y se centrifugó por 30 s. La columna y se transfirió a un tubo nuevo y limpio.

- Finalmente, 40 μL de la solución de elución (solución 5) se agregaron a la columna, se incubó por 1 min a temperatura ambiente y centrifugó por 30 s. La columna se sacó y el contenido se guardó a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, siendo el ADN plasmídico extraído del cultivo bacteriano. El procedimiento se realizó por duplicado.

Observación de ADN plasmídico por electroforesis en gel de agarosa

Una vez obtenido el ADN plasmídico, 98 mL de agua destilada + 2 mL de TAE 50X + 1.8 g de agarosa se colocaron en un matraz Erlenmeyer. El matraz se metió al microondas durante 1.5 min para disolver totalmente la agarosa.

Posteriormente, 1 μL de bromuro de etidio (300 ng mL^{-1}) se colocó en el gel líquido, que es el agente intercalante que permitirá la visualización del ADN. Cabe mencionar que, por seguridad, el procedimiento se realizó con guantes de nitrilo y sumo cuidado. En seguida, se vertió la mezcla en la cámara de electroforesis para el gel de agarosa (Marca Biorad, Modelo Sub Cell 192, Figura 5), antes que solidifique se colocó el peine, el cual formó los pozos donde se vierte la muestra.

Una vez que solidificó el gel, se quitaron las tapas laterales de la cámara de gel y se quitó el peine, y se colocó en la cámara electroforética. El lado del peine se colocó en la parte del polo negativo (Figura 6), que es la que emite la corriente eléctrica y fluye hacia el lado contrario, polo positivo.

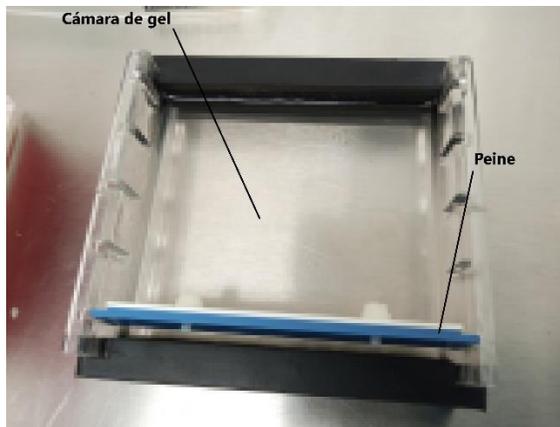


Figura 5. Molde del gel para la cámara de electroforesis utilizada y posición del peine para formación de pozos de colocación de la muestra de ADN.

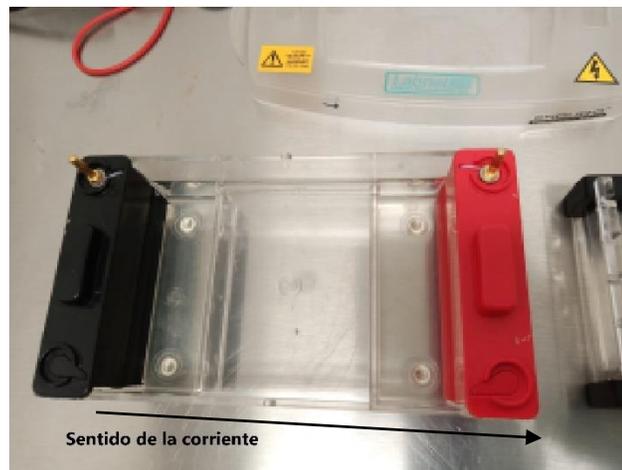


Figura 6. Cámara de electroforesis. La corriente va del polo negativo (negro) al positivo (rojo)

Posteriormente se vertió el buffer de electroforesis (12 mL de TAE 50X + 588 mL de agua destilada) en la cámara electroforética hasta cubrir perfectamente el gel. Para preparar la carga, sobre un trozo de “papel Parafilm” se colocó 20 μ L del tampón de carga, previamente preparado (3 mL de glicerol + 25 mg de azul de bromofenol + 10 mL de agua destilada), más 20 μ L de la muestra de ADN y se mezclaron por pipeteo. Una vez mezclados se cargó la mezcla dentro de un pozo de gel.

Una vez cargada la muestra se tapó la cámara y teniendo cuidado de que el lado negativo se encontrara del lado de las muestras, se encendió y se mantuvo trabajando durante media h. Al término de la electroforesis se sacó la muestra de gel y se colocó en el transiluminador, visualizando el plásmido de 3.3 Mb y confirmando que la bacteria R44 fue transformada.

4.3.3. Preparación del inóculo bacteriano

Para inocular las plantas con bacterias se inició por la preparación del inóculo se en caldo Rennie, el cual es el mismo que el medio del Cuadro 3, pero sin agar. Una vez preparado, se colocaron 22.5 mL de la solución “A” en los tubos falcon y en un frasco se colocó la solución “B”, se esterilizaron en una olla de presión a 1.8 kg cm^{-2} durante 18 min. Una vez terminado el tiempo se sacaron de la olla y dejaron enfriar. Una vez fríos, en la campana de flujo laminar, se colocaron 2.5 mL de la solución “B” en el tubo falcon para completar 25 mL de Caldo de fuente combinada de carbono (Rennie) por cada tubo falcon.

Con la cepa fijadora de N purificada, se preparó el inóculo en tubos falcon, tomando una muestra con un asa de la caja Petri y distribuyéndola en el medio de cultivo. Del mismo modo, se preparó el inóculo de la cepa *Bacillus pumilus* R44, pero el medio nutritivo fue 25 mL de caldo nutritivo + 25 μL de ampicilina por cada tubo falcon. Por último, se mantuvieron los tubos en agitación en incubadora (Marca Thermo Scientific, Modelo MaxQ 4000) a $28 \text{ }^\circ\text{C}$ y 2800 rpm, por un periodo de tres días.

Al término de los tres días, una vez que hubo crecimiento bacteriano, se sacaron los tubos, se centrifugaron a 3000 rpm durante 15 min, se llevaron a la campana de flujo laminar y se tiró el sobrenadante agregando 20 mL de agua destilada previamente esterilizada. Esta suspensión fue utilizada en la inoculación de las plantas.

Se inocularon las plántulas de los tratamientos que contienen bacterias, el 22 de abril, a los 28 DDS. Una dosis de 1 mL de suspensión con *Bacillus pumilus* y 1 mL con la bacteria fijadora de N fue aplicada a cada plántula. Se realizó una segunda inoculación el día 17 de mayo, a los 53 DDS, aplicando 1 mL de la suspensión de cada bacteria.

4.4 Trasplante de plántulas a macetas

El sustrato se preparó con una proporción 50:30:20 v/v de perlita, suelo y turba, respectivamente. Se mezcló y esterilizó por calor húmedo a 18 lbs plg^{-2} durante una h, y se guardó en bolsas de plástico hasta su uso en el trasplante.

El suelo se colectó de una parcela agrícola del municipio de Texcoco, Estado de México. El suelo se tamizó y mezcló. Se realizó un análisis de nutrientes en el Laboratorio de Fertilidad de Suelos del Colegio de Posgraduados, Campus Montecillo.

A los 65 DDS, el día 27 de mayo, se trasplantaron las plántulas en macetas de 600 mL, utilizando el sustrato con perlita, suelo y turba (Figura 7).



Figura 8. Vista general del tamaño de las plantas de chile trasplantadas en maceta de plástico

En el caso de los tratamientos que incluían compost, previo al trasplante, se mezcló el compost con el sustrato al 2% v/v. En el caso de tratamiento con HMA, la aplicación del inóculo micorrízico se realizó con una mezcla de segmentos de las plantas trampa; vaporub (*Plectranthus hadiensis*) y pasto (*Lolium perenne*) junto con la arena en la cual crecieron los HMA de la especie



Figura 7. Contenedor utilizado para la propagación de los HMA proporcionado por el Área de Microbiología

Rhizophagus intraradices. Se colocaron 10 g de esta mezcla en el fondo del cepellón. En la Figura 8 se muestra el contenedor utilizado para la propagación de los HMA.

Previo al trasplante, se determinó la presencia esporas del HMA mediante la técnica de clareo y tinción con azul de tripano (Phillips y Hayman, 1970). La presencia de HMA en 25 muestras de raicillas se verificó al microscopio con el objetivo 60X. Se observó que 48% de las muestras presentaron solo esporas, 48% vesículas, arbuscúlos y esporas y 4% no presentaron colonización. En la Figura 9 se observa un ejemplo de raíces de pasto colonizadas por HMA y se aprecian las esporas del hongo *Rhizophagus intraradices* utilizado en el experimento.

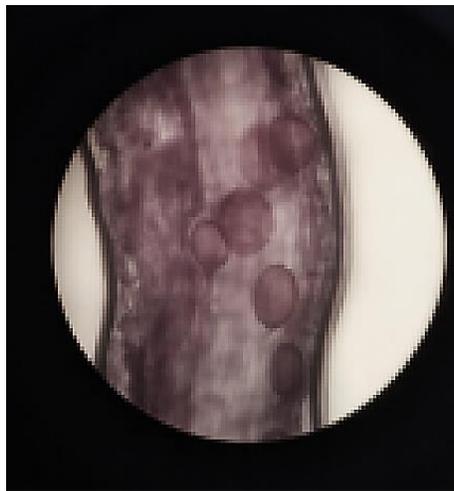


Figura 9. Esporas de HMA en raicillas de pasto (*Lolium perenne*) clareadas con KOH, teñidas con azul de tripano y observadas al microscopio.

4.4.1. Compost utilizado

El compost fue elaborado con residuos de jardinería y estiércol de borrego. Se realizó el análisis nutrimental por el Laboratorio de Fertilidad de Suelos, del Posgrado en Edafología, Colegio de Postgraduados; teniendo el siguiente contenido nutrimental del cuadro 4.

Cuadro 4. Análisis nutrimental (N y P) de compost.

	N total †	P total ¶
	(%)	
Compost	1.92	1.04

Datos son promedio de dos análisis. † N total: Método Kjeldahl. Digestión con H₂SO₄ concentrado, arrastre de vapor y destilación. ¶ P total: digestión con HNO₃+HClO₄ 2:1 y determinación colorimétrica con complejo amarillo vanadomolibdato.

4.5 Riego

Las plantas fueron regadas con agua corriente durante su etapa de germinación, plántula y trasplante, hasta el término del experimento.

4.6 Tratamientos y diseño experimental

Se estableció un experimento factorial 2x2x2, siendo el primer factor la aplicación de compost, el segundo la inoculación con HMA y el tercero la aplicación de RPCV; para un total de 8 tratamientos y 18 repeticiones, con un total de 144 unidades experimentales (Figura 10).

Tratamiento 1. Bacterias (*Bacillus pumilus* R44 y bacteria fijadora de N)

Tratamiento 2. Bacterias + HMA

Tratamiento 3. Bacterias + compost

Tratamiento 4. HMA + compost

Tratamiento 5. Bacterias + HMA + compost

Tratamiento 6. HMA

Tratamiento 7. Compost

Tratamiento 8. Testigo

Análisis estadístico. Para todas las variables se realizó análisis de varianza ANOVA y una prueba de comparación de medias Tukey ($P \leq 0.05$) con el programa SAS/STAT 10.1.



Figura 10. Vista general del experimento en invernadero.

4.7 Variables evaluadas en plantas en maceta

4.7.1 Altura de la planta

La altura de las plantas se midió, con un flexómetro, desde la base hasta el ápice. Esta medida se realizó cada semana desde el trasplante hasta el término del experimento.

4.7.2 Número de hojas verdaderas

A partir del trasplante, se contó el número de hojas verdaderas semanalmente, hasta finalizar el experimento.

4.7.3 Aparición del primordio floral

Se realizaron observaciones para detectar la aparición de primordio floral en todas las plantas.

4.8 Variables evaluadas después de la cosecha

El corte de las plantas se realizó a los 70 días después del trasplante (DDT), lo que corresponde a 135 días después de la siembra (DDS).

4.8.1. Peso seco de la raíz

Se cortó la parte aérea de la planta y se introdujo en bolsas de papel, previamente identificadas. La raíz se sacó del sustrato y se lavó hasta quitar todos los residuos de sustrato y se pesó en una báscula. Enseguida se realizó la separación de la raíz en dos partes iguales. Una parte se utilizó para determinaciones relacionadas con microorganismos rizosféricos. Posteriormente, se realizó el secado de la otra parte de la raíz en horno a 70°C y 48 h después, la determinación de la mitad del peso seco radical. Para calcular el peso seco total de la raíz se multiplicó por 2.

4.8.2. Peso seco de la parte aérea

El peso seco se determinó al secar el material vegetal de la parte aérea en el horno (Marca Thermo Fisher LGO) durante 48 h a 65 °C. Al término se sacó y determinó el peso seco en una balanza digital (Marca Sartorius Entris).

4.8.3. Volumen de los frutos

Los diámetros radial y longitudinal de los frutos producidos a los 135 DDS se midieron con vernier digital (Marca Truper Modelo Caldi 6MP). Con estas medidas se calculó el volumen del elipsoide (volumen calculado del fruto) y se expresó en mm³. La fórmula utilizada para los cálculos fue:

Volumen calculado del fruto= $4/3\pi*2a*b$

Donde a=diámetro radial (ancho del fruto).

b= diámetro longitudinal (largo del fruto).

4.8.4. Nutrientes en parte aérea vegetal

Después de determinar el peso seco de la parte aérea, en el material vegetal seco se analizó el contenido de N por el método Kjeldahl y el de P por digestión con ácido nítrico/perclórico y colorimetría con el método del fosfo/molibdo/vanadato (Alcántar y Sandoval, 1999).

4.8.5. Cuento de bacterias inoculadas presentes en la rizósfera

Se usó el método de cuenta viable en medio de cultivo fuente combinada de carbono para bacterias fijadoras de N atmosférico y en el medio de cultivo agar nutritivo con antibiótico para el caso de las bacterias inoculadas y las cuales fueron transformadas genéticamente para identificarlas del resto de los microorganismos (A46 con inserción del plásmido pDSRed-Express que confiere resistencia a ampicilina y producción de proteína fluorescente roja). De la mitad de las raíces frescas se tomó 1 g de muestra por tratamiento y se colocó en frascos de dilución con 9 mL de agua destilada esterilizada. Se agitó durante 30 minutos y se realizaron diluciones decimales transfiriendo 1 mL de la suspensión al siguiente tubo con 9 mL de agua destilada esterilizada. Se realizaron diluciones decimales seriadas. Se sembraron las diluciones 10^{-4} , 10^{-5} y 10^{-6} en cajas de Petri con medio de cultivo correspondiente, por triplicado. El conteo de colonias bacterianas crecidas en las cajas de Petri se realizó 72 horas después. Los datos de unidades formadoras de colonias por g de suelo rizosférico seco se calcularon con los datos del conteo.

4.8.6. Observación de bacterias transformadas en la raíz del chile por microscopía de fluorescencia

Al final del experimento, la mitad de las raíces frescas de cada planta se lavaron y se refrigeraron a 5 °C, y después de 3 días se observaron en microscopio óptico con epifluorescencia (Marca Olympus, Modelo BX-51 equipado con filtro U-FRFP para 563-582 nm) para ubicar los sitios de colonización por la bacteria transformada con el plásmido DsRFP-Express, que provoca producción de proteína fluorescente roja. Se tomaron micrografías a distintos aumentos con

cámara adaptada al microscopio triocular (Marca Olympus, Modelo Q-color 3, 3.2 Megapíxeles de resolución máxima) y procesamiento de imágenes con el software de la cámara (QCapture Suite).

4.8.7. Colonización micorrízica

Las raíces inoculadas con *Rhizophagus intraradices* se clarean con KOH y H₂O₂, para teñir con azul tripano, según la técnica de Phillips y Hayman (1970). Las raicillas teñidas se cortaron en segmentos de aproximadamente 1 cm, se colocaron 25 segmentos en portaobjetos, se cubrieron con cubreobjetos y se observaron en microscopio óptico (Marca Leica, Modelo DM100) con el objetivo 60X. Con base en la presencia de las estructuras del hongo (hifas, vesículas y arbusculos) en cada campo de observación y en cada segmento de raíz, se calculó el porcentaje de colonización micorrízica. Para el análisis estadístico, los valores de porcentaje se convirtieron a logaritmo natural. Los resultados se presentan con los valores de porcentaje, pero indicando las diferencias entre tratamientos derivadas del análisis en forma de logaritmo natural.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN GENERAL

En el trasplante se pudo apreciar un mejor desarrollo radical de las plantas inoculadas con el consorcio bacteriano. Lo anterior resultó en un cepellón mejor estructurado y compacto, facilitando la extracción y manejo para su trasplante, en comparación a las plántulas no inoculadas (Figura 11)



Figura 11. Vista general de cepellón y charolas de germinación conteniendo plántulas sin inocular (izquierda) e inoculadas con el consorcio bacteriano (derecha).

Al respecto, los primeros estadios de desarrollo de la planta o cultivo, que abarcan desde la emergencia y alargamiento del hipocótilo hasta que se desarrollan las primeras hojas verdaderas,

suelen ser los más importantes para asegurar un crecimiento vigoroso después del trasplante (Negreros-Castillo *et al.*, 2010; Moreno *et al.*, 2011). Además, las plántulas que presentan un mejor tamaño radical, podrán sobrellevar de manera eficiente el trasplante logrando una rápida adaptación, debido a que tienen mayores raíces adventicias y pelos absorbentes, los cuales son importantes para la absorción de agua y nutrientes (Taiz y Zeiger, 2010).

5.1 Variables evaluadas en plantas en maceta

5.1.1. Altura de la planta

En cuanto a altura de las plantas, en la semana cero todos los tratamientos iniciaron con la misma altura (6.84 cm en promedio). Sin embargo, la tendencia indica que a partir de la tercera semana después del trasplante y hasta el final del experimento, ocurrido a las 10 semanas después del trasplante; las plantas más bajas fueron las del tratamiento testigo y las más altas fueron las del tratamiento sólo con adición de compost (Figura 12). A partir de la semana 3 y hasta 7 SDT los tratamientos con mayor altura fueron C, HMA+C y B+HMA+C; los cuales superaron al TESTIGO. A las 8 SDT, los tratamientos C y HMA+C continuaron superando al TESTIGO. Para la última fecha de muestreo, 10 SDT, el tratamiento C fue el que alcanzó la mayor altura y, además, al tratamiento HMA+B que denotó plantas que se quedaron bajas (Figura 12). Por lo anterior, los resultados indican que la aplicación de compost fue el factor más determinante para la presencia de plantas altas. De manera similar, Gómez *et al.* (2008) encontraron que con la incorporación de vermicompost se incrementa hasta en 48% la altura de las plantas de rábano y frijol y Manjarrez *et al.* (1999) obtuvieron valores similares en chile serrano, López Arcos *et al.* (2012) y Nieto-Garibay *et al.* (2002) en chile habanero y Moreno *et al.* (2014) en chile húngaro. Sin dejar a un lado el efecto que tienen los microorganismos en promover el crecimiento de las plantas adicional a la aplicación de compost. Efecto que fue reportado por López-Moctezuma *et al.* (2005) en plantas de papayo. También, Quiroz-Sarmiento *et al.* (2019) reportaron que la inoculación con RPCV en perlas de alginato estimularon el crecimiento de las plántulas de chile Poblano hasta 35% con respecto al testigo en semillero.

A pesar de las diferencias entre tratamientos presentadas en las primeras etapas del cultivo, la altura ganada por las plantas de chile poblano desde el trasplante hasta el final del experimento no presentó diferencias significativas (p value = 0.04936). Líneas horizontales indican medianas

del tratamiento, los rombos indican promedios del tratamiento, las cajas el rango intercuartílico, las líneas verticales el valor mínimo (valor más bajo de la vertical de abajo) y el máximo (valor más alto de la vertical de arriba) y los puntos fuera de las cajas los valores atípicos. (Figura 13).

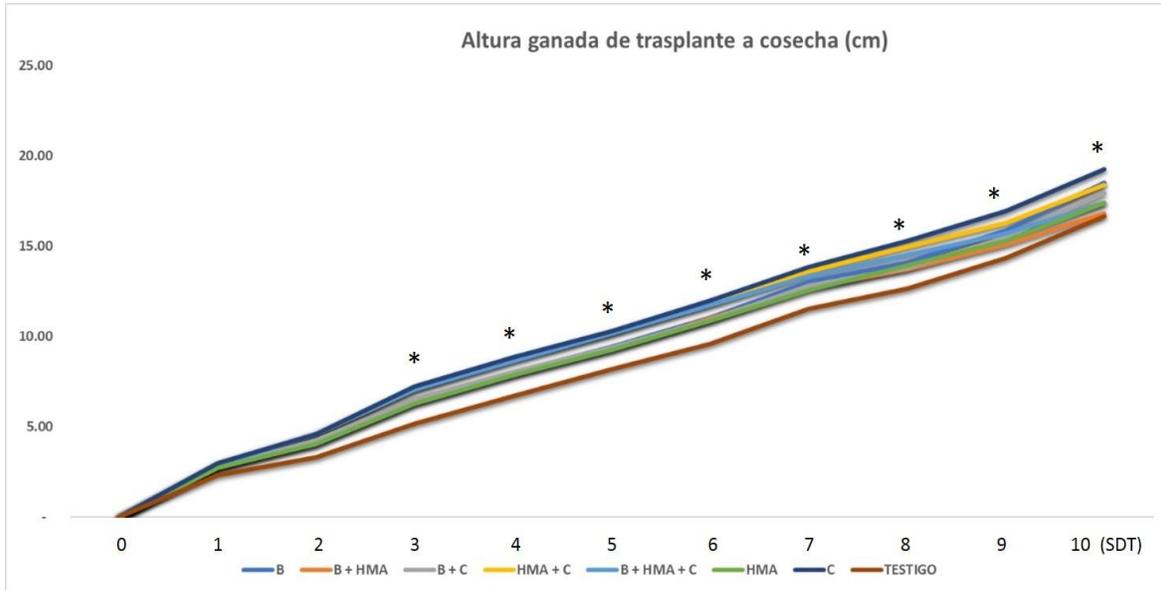


Figura 12. Altura semanal acumulada de las plantas de chile poblano. SDT= semanas después del trasplante. *= Diferencias significativas entre tratamientos (Tukey, $\alpha=0.05$). C= compost, B= bacterias, HMA= hongos micorrízicos arbusculares.

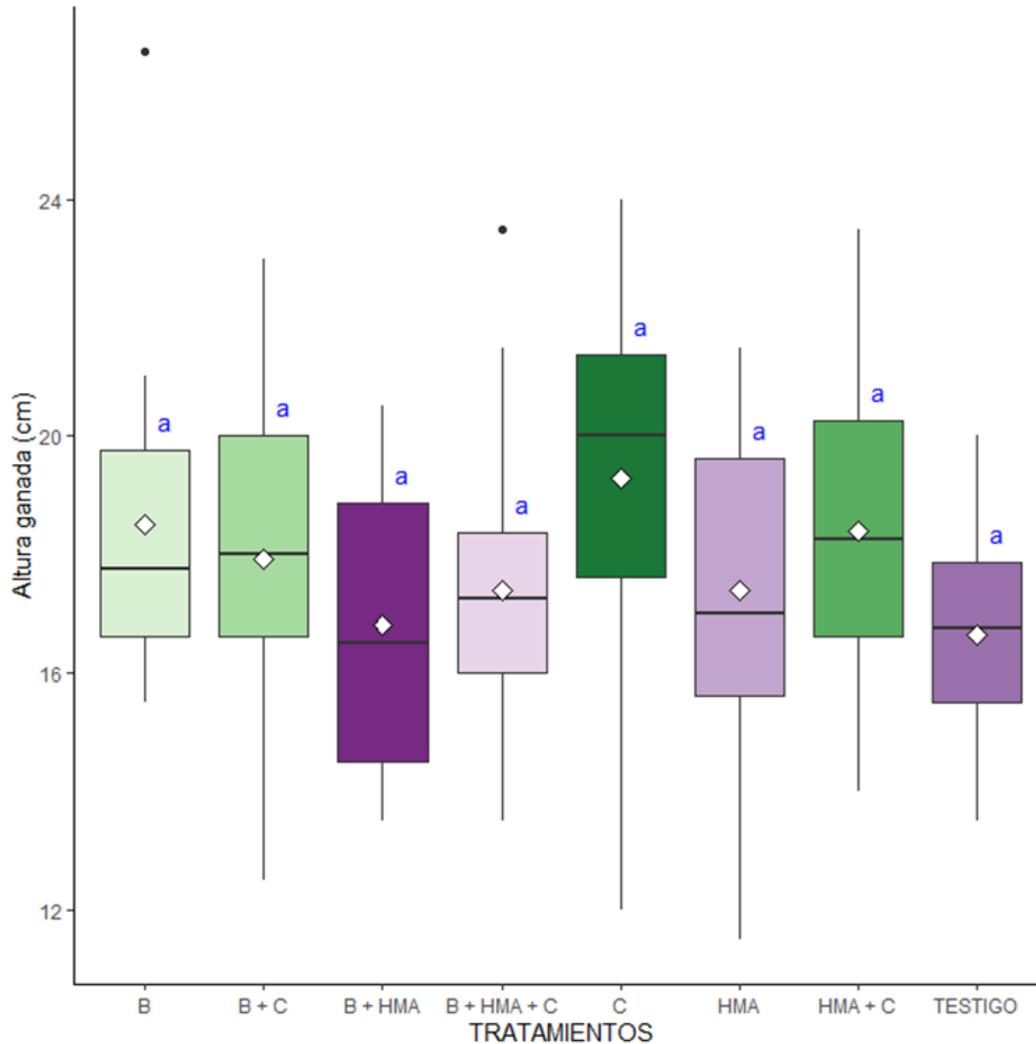


Figura 13. Altura ganada del trasplante al final del experimento por las plantas de chile poblano. Líneas verticales representan diferencia mínima significativa. No existen diferencias significativas entre tratamientos con la misma letra, Tukey, $\alpha=0.05$). B= bacterias, C= compost y HMA= hongos micorrízicos arbusculares

5.1.2. Número de hojas verdaderas

En cuanto al número de hojas verdaderas, no se presentaron diferencias entre tratamientos (Cuadro 5). Lo anterior indica que, durante esta etapa inicial, las reservas nutrimentales de la semilla fueron suficientes para sostener el crecimiento de las plantas de todos los tratamientos y no se evidenciaron los beneficios de compost ni de microorganismos. Misma tendencia fue reportada por Moreno *et al.* (2014) en chile húngaro cultivado en arena y por López Arcos *et al.* (2012) en chile habanero.

Cuadro 5. Número de hojas de las plantas de chile poblano al momento de la cosecha (10 SDT).

TRATAMIENTO	Número de hojas	Grupos estadísticos*
B	11.00	a
B + C	10.72	a
TESTIGO	10.67	a
C	10.56	a
HMA + C	10.56	a
HMA	10.17	a
B + HMA	10.11	a
B + HMA + C	9.72	a
<i>P value</i>	0.1036	

B= bacterias, C= compost, HMA= hongos micorrízicos arbusculares. (*) Tukey, $\alpha=0.05$.

5.1.3. Aparición del primordio floral

Hasta la semana 3 DT no hubo diferencias entre tratamientos. Pero, a partir de la semana 4 DT, todos los tratamientos superaron al testigo. En la semana 5 DT se presentó el primer pico de aparición de primordios florales. En esta fecha, la mayor cantidad de primordios florales se presentaron en las plantas de los tratamientos B+HMA, B+HMA+C, C, B+C y HMA+C; los cuales superaron al testigo. En la semana 6 DT sólo el tratamiento B+HMA superó al testigo y se presentó la caída de primordios florales. En la semana 8 DT se presentó un segundo pico de floración y los tratamientos C, testigo, HMA+C y B, superaron al tratamiento B+HMA+C. A las 10 SDT los tratamientos testigo, C, HMA+C superaron al tratamiento B+HMA (Figura 14).

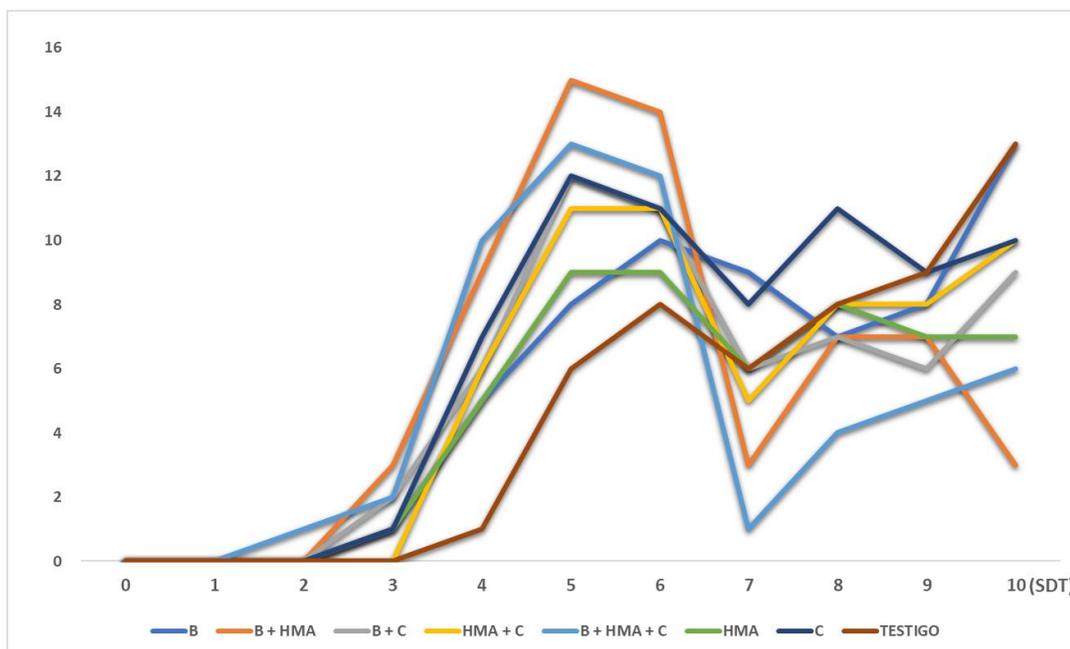


Figura 14. Número de primordios florales en las plantas de chile poblano. C= compost, B= bacterias, HMA= hongos micorrízicos arbusculares.

5.2. Variables evaluadas después de la cosecha

5.2.1. Peso seco de la raíz

Al momento de la cosecha, 135 DDS, los tratamientos B, B+C, B+HMA+C y testigo superaron al tratamiento HMA+C (Figura 15). Lo anterior indica que la inoculación bacteriana fue el factor más determinante para promover el crecimiento de las raíces y después la aplicación de compost. Esta tendencia fue ampliamente discutida en la revisión hecha por Nadeem *et al.* (2014) y con el trabajo de Vazallo *et al.* (2013), en el que identificaron que las raíces de *C. annuum* tratadas con *Rhizobium etli*, y con *Trichoderma viride* incrementaron la longitud radical con respecto al testigo (sin inocular).

Desde otro punto de vista, la tendencia se contrapone a otros reportes (Nieto-Garibay *et al.*; 2002; Sánchez-Monedero *et al.*, 2004; Arancon *et al.*, 2005; Moreno *et al.* 2014), en los que se indica que el principal factor para promover el crecimiento radical en plantas de chile es la aplicación de nutrientes en forma de compost o vermicompost. Seguramente, debido a que los autores de estos trabajos utilizaron sustratos con más bajos contenidos de nutrientes disponibles. También, David-Santoya *et al.*, (2018), detectaron que con la aplicación de vermicompost y

bocashi se incrementó 87% la longitud radical en plántulas de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacquin.) con respecto al testigo cultivado en suelo sin abonos orgánicos.

En el presente trabajo también se pudo observar que al inocular HMA junto con la aplicación de nutrientes en forma de compost, las raíces crecieron menos que el testigo y otros tratamientos con bacterias. Sin embargo, estas raíces más pequeñas no provocaron que la parte aérea sea pequeña, ya que el peso seco de la parte aérea fue la que tuvo valores más altos y superó al testigo (Figura 16). Este efecto fue explicado por Angulo-Castro *et al.* (2018), al indicar que el volumen radical de plantas de chile de los cultivares Bell pepper y Jalapeño evidenció mayor respuesta por la inoculación de RPCV que por HMA. Lo anterior porque las hifas del hongo exploran de forma más efectiva el suelo y ayudan a adquirir los nutrimentos de manera más eficiente; es decir, actúan como una extensión de las raíces, por lo que la planta no requiere de mayor crecimiento radical para absorber y asimilar nutrimentos.

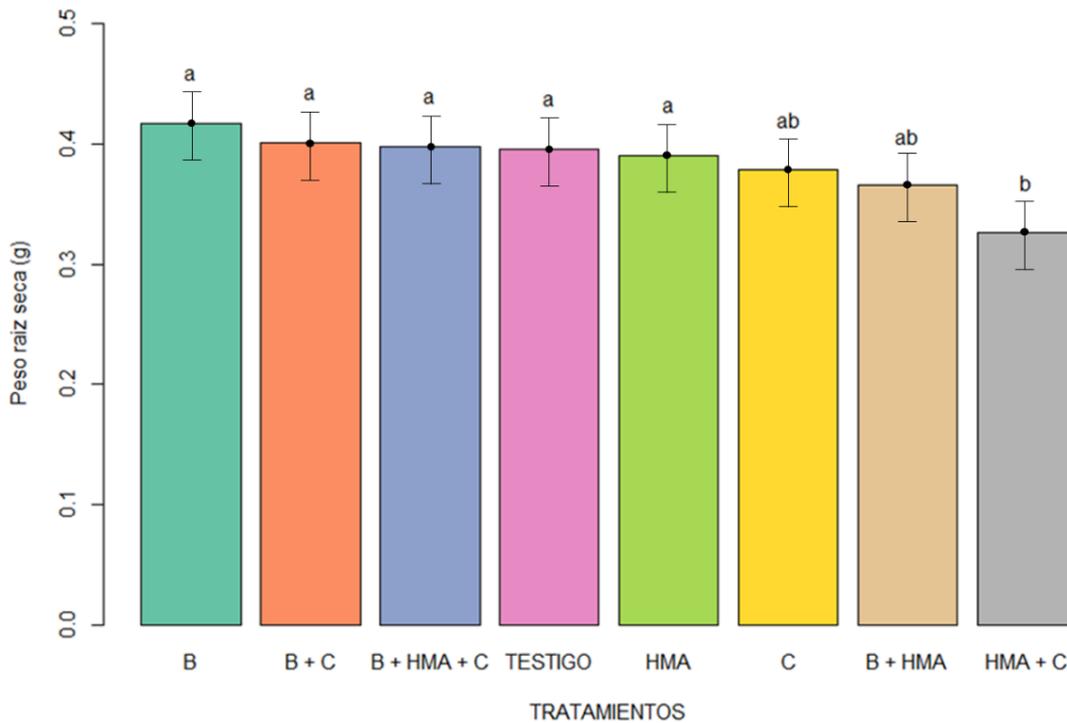


Figura 15. Peso seco de la raíz de chile poblano. Líneas verticales representan diferencia mínima significativa. Columnas con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $\alpha=0.05$). C= compost, B= bacterias, HMA= hongos micorrízicos arbusculares.

5.2.2. Peso seco de la parte aérea

Al final del experimento, 135 DDS, todos los tratamientos superaron al testigo en peso seco de la parte aérea. Los tratamientos que presentaron los valores más destacados fueron B+HMA+C y C; los cuales, además de superar al testigo, también superaron al tratamiento inoculado solamente con HMA (Figura 16). Este resultado, que indica que la materia seca aérea producida en el tratamiento de compost más microorganismos es similar al tratamiento sólo con compost puede atribuirse a los microorganismos benéficos contenidos en el compost, los cuales pueden ser los causantes de aumentar la disponibilidad de nutrientes en la solución del suelo; tal y como lo reporta Oropeza y Russián (2008). En este sentido, Azadi *et al.* (2011) señalaron que con la incorporación de productos orgánicos al cultivo del chile obtuvieron un incremento sustantivo en la parte aérea; es decir, en la parte de la planta fotosintéticamente activa. La parte aérea corresponde al tejido fotosintético de una planta y determina la cantidad de luz absorbida y convertida en biomasa

vegetal (Valles *et al.*, 2009). Las plantas con mayor parte aérea, y en condiciones favorables, llegan a ser capaces de utilizar mejor la energía lumínica del sol y con una tasa fotosintética más acelerada (Deaquiz *et al.*, 2008). Resultados acordes a lo anterior fueron obtenidos por Moreno *et al.* (2014) en chile húngaro, por Berova *et al.* (2010) en pimiento y por Nieto-Garibay *et al.* (2002) en chile habanero. Al respecto, Cabanzo *et al.* (2020) indicaron que la producción de plántulas de chile serrano se mejora con la inoculación de RPCV y solución nutritiva. Además, el uso de sustrato no estéril favorece el crecimiento de las plántulas. El té de vermicompost a pesar de ser una fuente de nutrientes, no es suficiente para la obtención de plántulas más grandes y sólo promueve el crecimiento de su raíz.

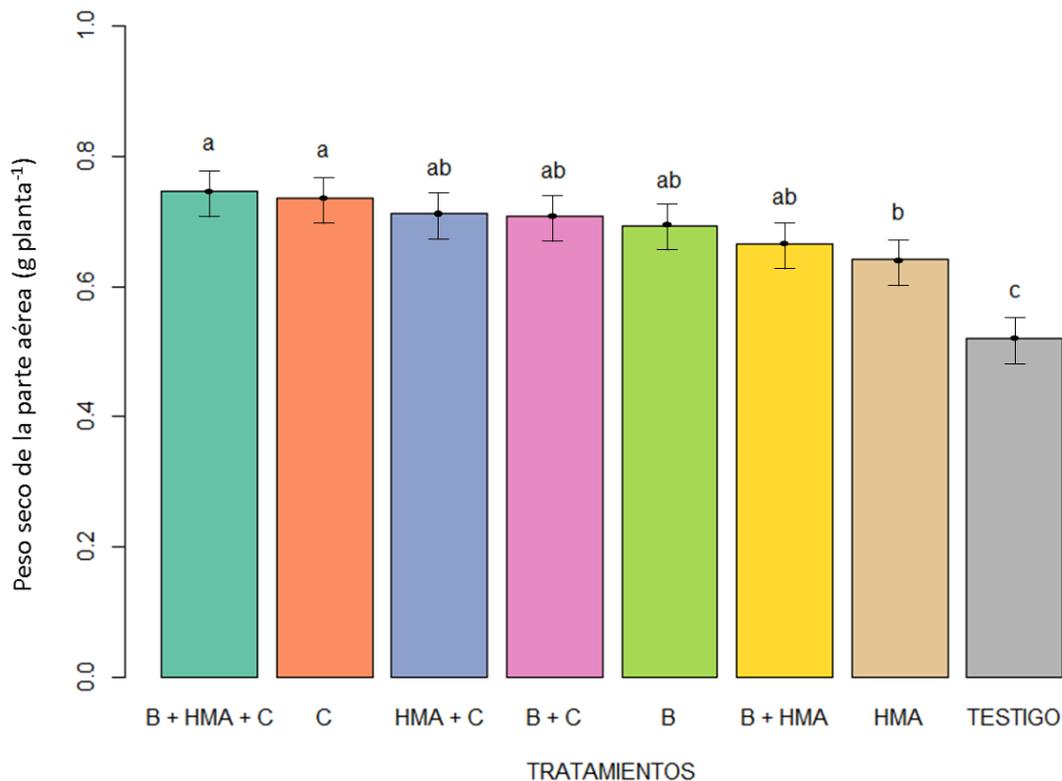


Figura 16. Peso seco de la parte aérea de plantas de chile al final del experimento, 135 DDS. Líneas verticales representan diferencia mínima significativa. Existe diferencia significativa entre columnas de tratamientos con letras diferentes (Tukey, $\alpha=0.05$). C= compost, B= bacterias, HMA= hongos micorrízicos arbusculares.

5.2.3. Volumen de los frutos

Al final del experimento, los tratamientos C, B+C y B+HMA+C presentaron los frutos más grandes (Figura 17). Los frutos más pequeños correspondieron a los tratamientos testigo, B, HMA y HMA+C. El volumen de los frutos del tratamiento B+HMA también superó a estos tres últimos (Figura 17). En este sentido, Moreno *et al.* (2014) reportaron frutos más grandes (diámetro ecuatorial y longitudinal) en tratamientos con aplicación de compost en chile húngaro cultivado en arena y López-Arcos *et al.* (2012) en chile habanero. Berova *et al.* (2010) obtuvieron frutos más grandes y mayor producción de chile en tratamientos con aplicación de compost. Adicionalmente, López-Moctezuma *et al.* (2005) indica que el aporte de nutrientes por el compost se ve potenciado por la actividad microbiana de bacterias promotoras del crecimiento vegetal y de los hongos micorrízicos arbusculares. Lo anterior, también se pudo apreciar en el presente trabajo (Figura 17).

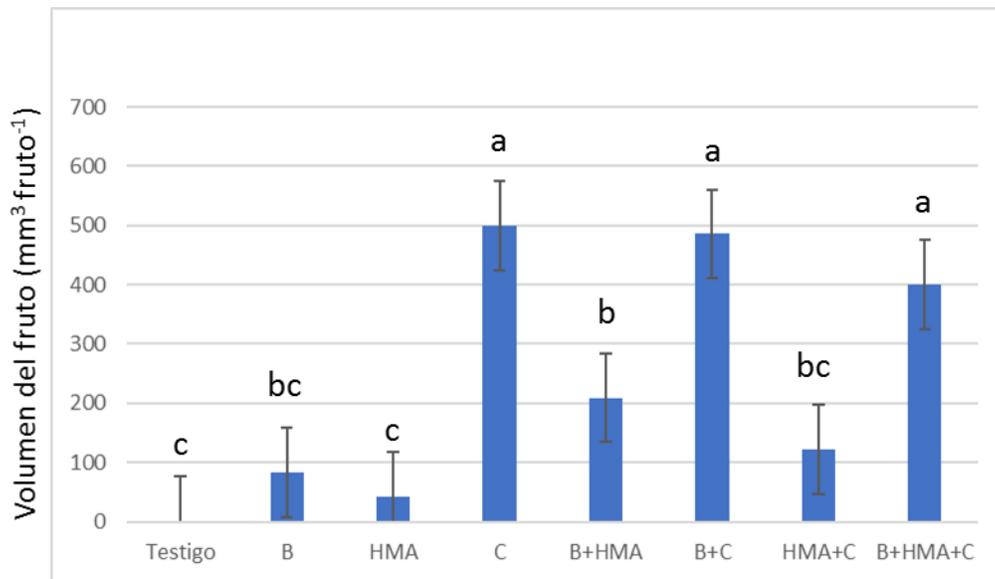


Figura 17. Volumen de los frutos de chile poblano al final del experimento, 135 DDS. Líneas verticales representan diferencia mínima significativa. Existe diferencia significativa entre columnas de tratamientos con letras diferentes (Tukey, $\alpha=0.05$). C= compost, B= bacterias, HMA= hongos micorrízicos arbusculares.

5.2.4. Nutrientes en parte aérea vegetal

El contenido de N en la parte aérea fue mayor en todos los tratamientos en comparación al testigo (figura 18). Los valores más altos se presentaron en los tratamientos HMA, B, B+C, B+HMA+C, HMA+C y C; en ese orden (Figura 18).

En la misma fecha, los contenidos de P de las plantas de todos los tratamientos superaron al testigo (Figura 19). Los valores más altos se presentaron en los tratamientos con compost y microorganismos; es decir, B+HMA+C, HMA+C Y B+C. Estos tratamientos superaron a los restantes (Figura 19). Resultados similares fueron obtenidos por Aram y Rangarajan (2005) en Chile y por López-Moctezuma *et al.* (2005) en cultivo del papayo. En ambas publicaciones indicaron que la aplicación de compost junto con la inoculación con bacterias promotoras del crecimiento vegetal y con hongos micorrízicos arbusculares elevan la concentración y cantidad de nutrientes absorbidos por la planta y acumulados en la parte aérea (N, P y Zn; especialmente en etapas iniciales de los cultivos). Angulo-Castro *et al.* (2018), mencionaron que los HMA son importantes en la agricultura ecológica por los beneficios que tienen en los cultivos al actuar como movilizadores de agua y nutrientes, entre ellos P, Zn y Cu. 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. Algunas hortalizas que en su inicio requieren una etapa de vivero, como es el caso del Chile pueden tener beneficios en la adquisición de nutrientes por la inoculación de HMA. Lo cual se ve reflejado en su crecimiento.

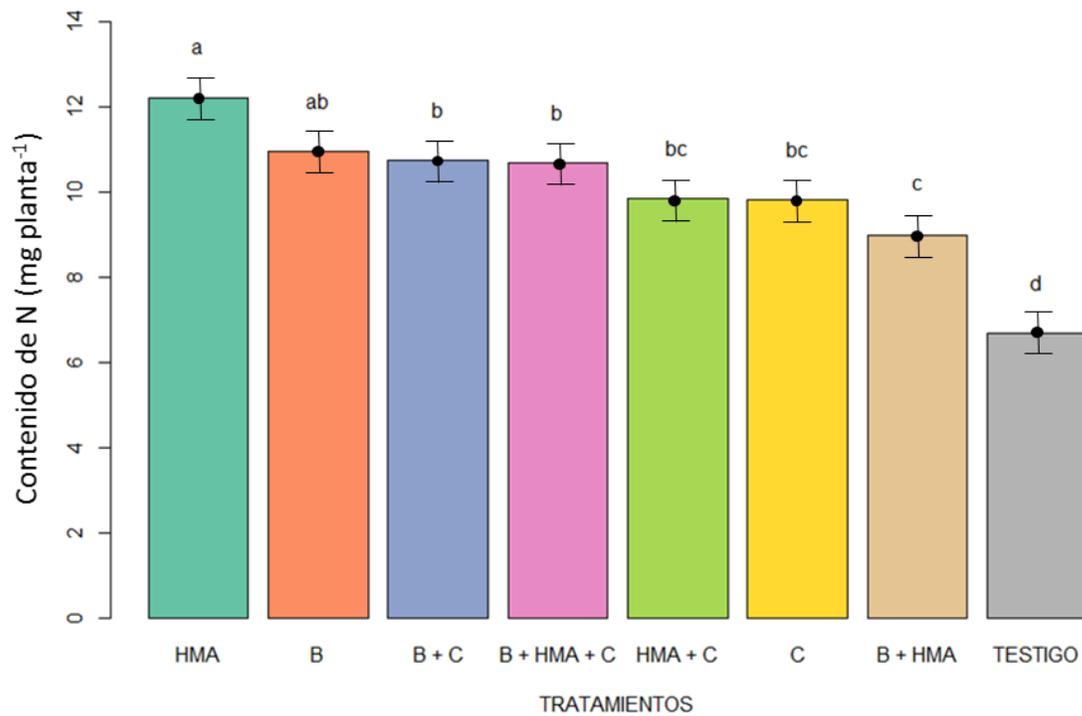


Figura 18. Contenido de N en la parte aérea de plantas de chile poblano al final del experimento, 135 DDS. Líneas verticales representan diferencia mínima significativa. Existe diferencia significativa entre columnas de tratamientos con letras diferentes (Tukey, $\alpha=0.05$). C= compost, B= bacterias, HMA= hongos micorrízicos arbusculares.

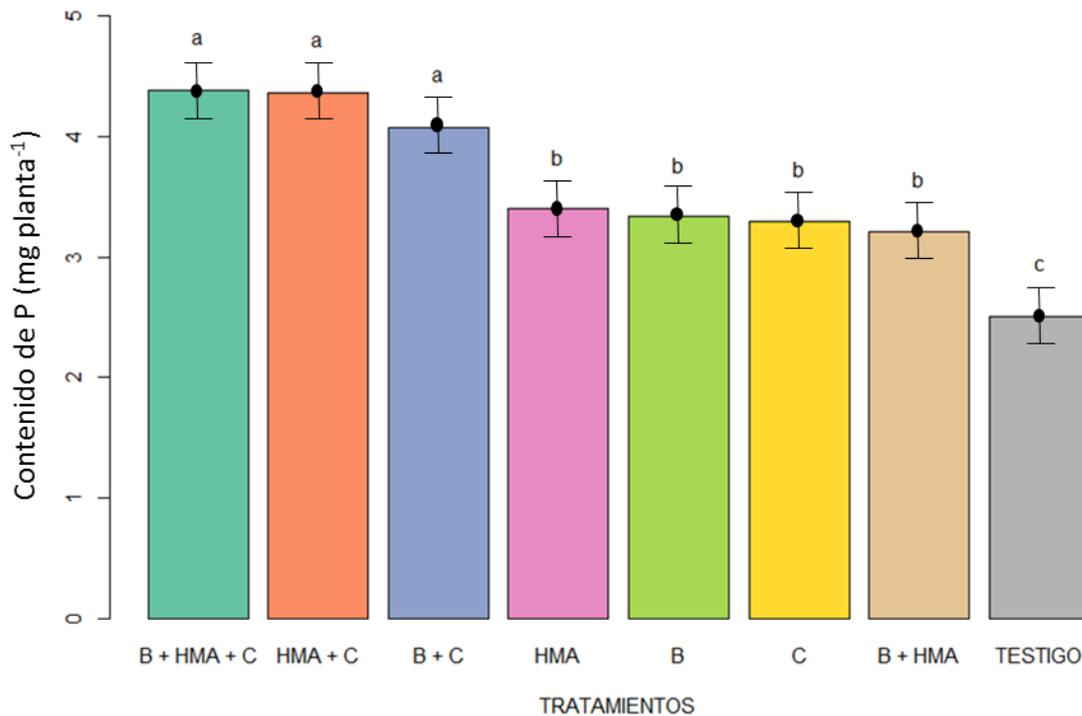


Figura 19. Contenido de P en la parte aérea de plantas de chile poblano al final del experimento, 135 DDS. Líneas verticales representan diferencia mínima significativa. Existe diferencia significativa entre columnas de tratamientos con letras diferentes (Tukey, $\alpha=0.05$). C= compost, B= bacterias, HMA= hongos micorrízicos arbusculares.

5.2.5. Conteo de bacterias en la rizósfera

La población de bacterias totales fue menor en el tratamiento B+HMA+C y en el testigo; siendo superados por todos los tratamientos restantes (Cuadro 6). El menor número de bacterias fijadoras de N atmosférico en la rizósfera a los 135 DDS se presentó en el testigo; el cual fue superado por los tratamientos restantes. Los valores más altos se presentaron en el tratamiento B+C, B+HMA y HMA (Cuadro 6). En referencia a las bacterias transformadas, éstas no se detectaron en tratamientos sin inoculación de las mismas. El tratamiento con la mayor población de estos microorganismos inoculados fue B (Cuadro 6).

Cuadro 6. Tamaño de la población de bacterias totales, fijadoras de N atmosférico y R44 inoculada en la rizósfera de chile poblano al final del experimento.

Tratamiento	Bacterias totales		Bacterias fijadoras de N atmosférico		Bacterias fluorescentes inoculadas	
	$\times 10^5$ UFC g^{-1} de suelo rizosférico seco					
B	22.67	a	15.28	bc	21.58	a
B + C	15.67	abc	16.46	abc	15.87	b
B + HMA	21.17	ab	21.43	a	17.36	b
B + HMA + C	10.33	c	14.30	bc	14.03	b
C	16.50	abc	14.58	bc	0.00	*
HMA	20.67	ab	19.43	ab	0.00	*
HMA + C	21.67	ab	15.22	bc	0.00	*
TESTIGO	14.50	bc	13.51	c	0.00	*

Promedios con la misma letra y en la misma columna son estadísticamente iguales (Tukey, $\alpha=0.05$). C= compost, B= bacterias y HMA= hongos micorrízicos arbusculares. *= no se incluyó en el análisis estadístico por tener valores en ceros.

5.2.6. Observación de bacterias transformadas en la raíz del chile por microscopía de fluorescencia

Mediante la técnica de microscopía de epifluorescencia fue posible la localización de conjuntos de células de la raíz del chile poblano colonizadas por las bacterias marcadas con genes que codifican para la proteína fluorescente roja DsRed. La colonización radical más extensa, expresada en tamaño de la población bacteriana en suelo rizosférico (Cuadro 6), se presentó en el tratamiento sólo inoculado con bacterias y de la misma manera, de manera visual, el mayor número de conjuntos de células radicales con fluorescencia se presentó en este tratamiento (B; Figura 20). También fue posible observar colonización por la cepa bacteriana transformada con DsRed en los tratamientos inoculados con bacterias y hongos micorrízicos (B+HMA; Figura 21) e inoculado con bacterias y hongos y aplicación de compost (B+HMA+C; Figura 22); lo que corresponde con los conteos de bacterias transformadas en el suelo rizosférico (Cuadro 6).

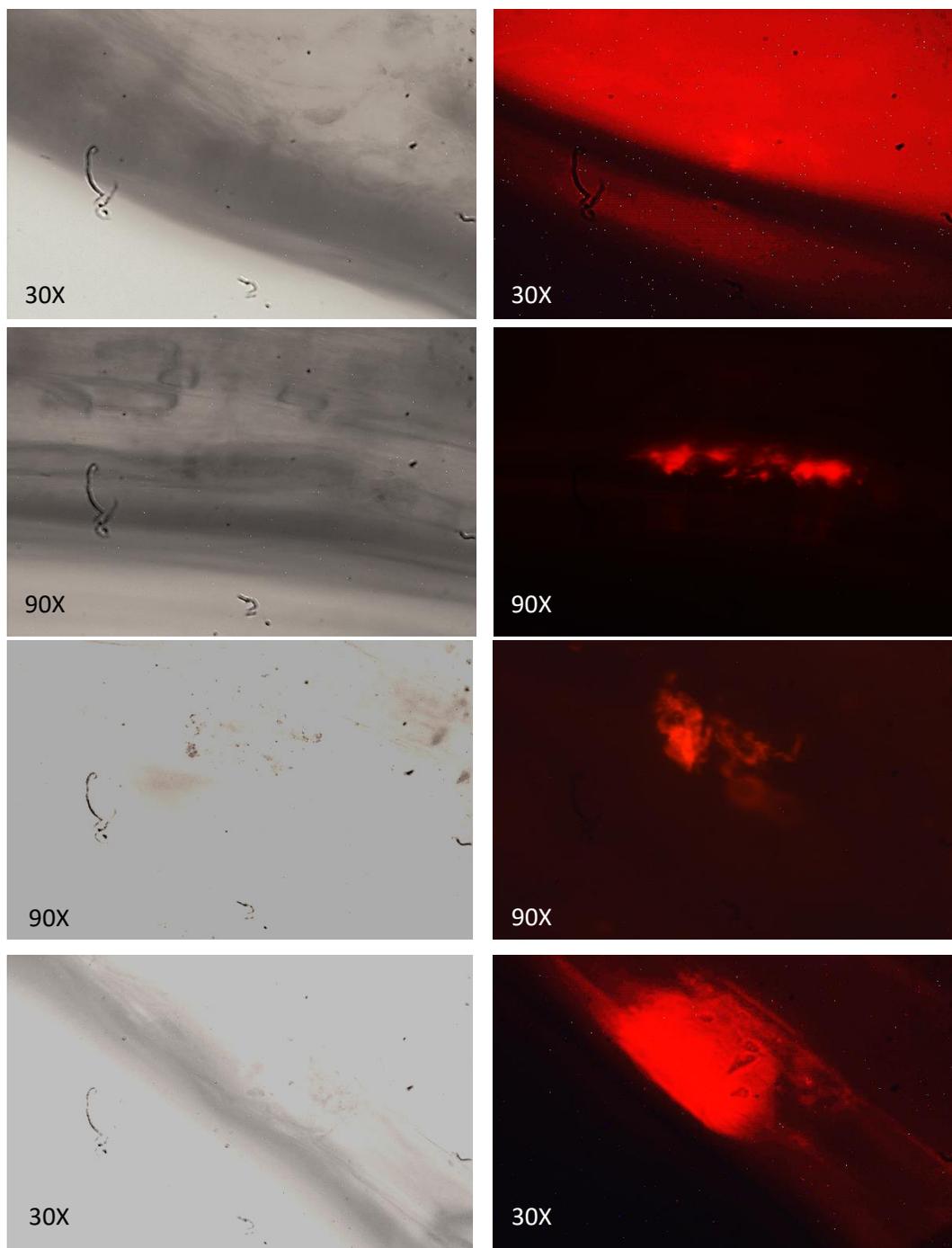


Figura 20. Micrografías de distintos segmentos de raíces de plantas de chile poblano del tratamiento inoculado con bacterias (B), a los 135 DDS, tomadas con la técnica de microscopia de campo claro (izquierda) y mismo campo de observación con la técnica de epifluorescencia (derecha). Se indica el aumento de cada micrografía.

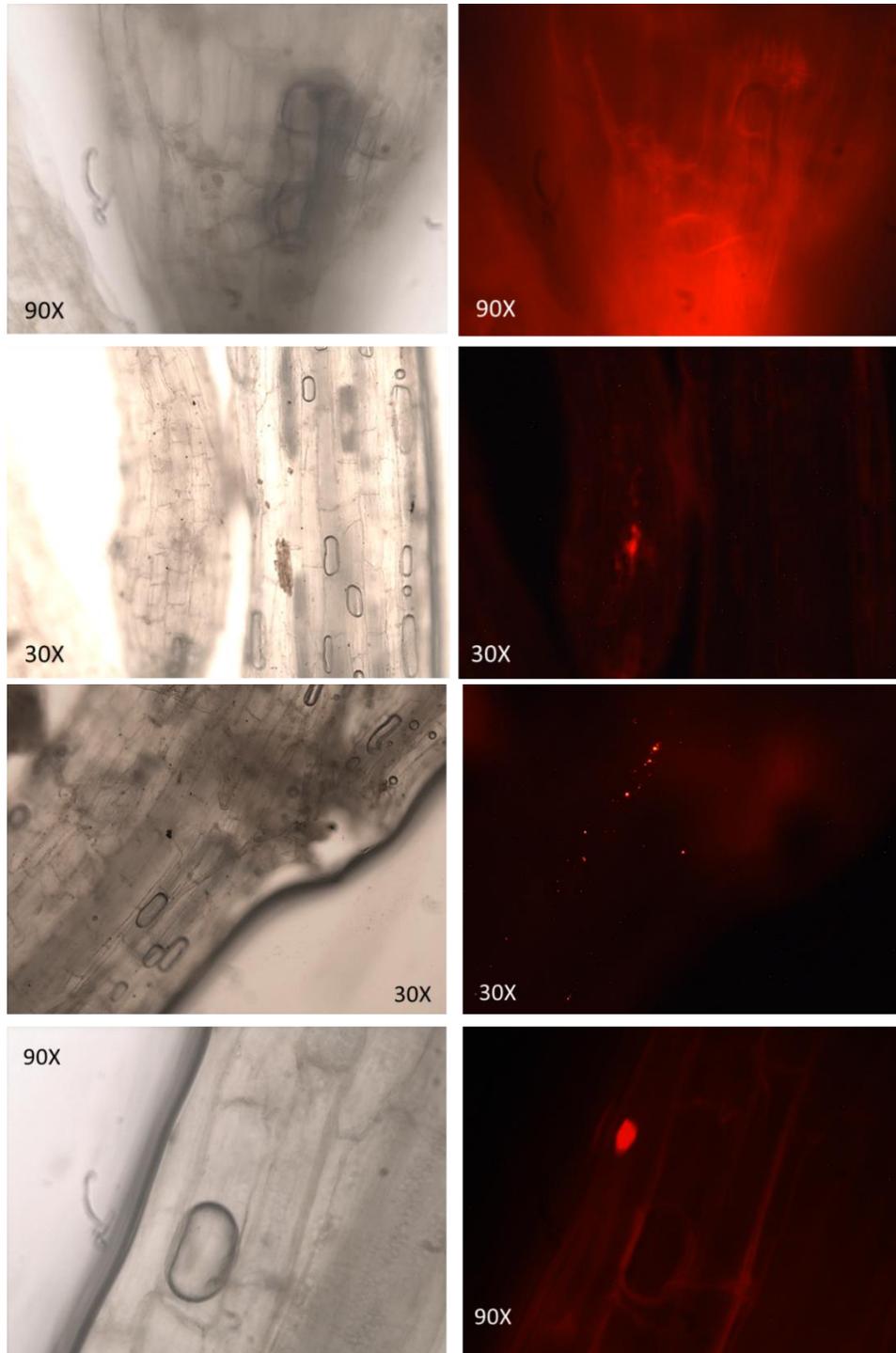


Figura 21. Micrografías de distintos segmentos de raíces de plantas de chile poblano del tratamiento inoculado con bacterias y hongos micorrízicos arbusculares (B+HMA), a los 135 DDS, tomadas con la técnica de microscopia de campo claro (izquierda) y mismo campo de observación con la técnica de epifluorescencia (derecha). Se indica el aumento de cada micrografía.

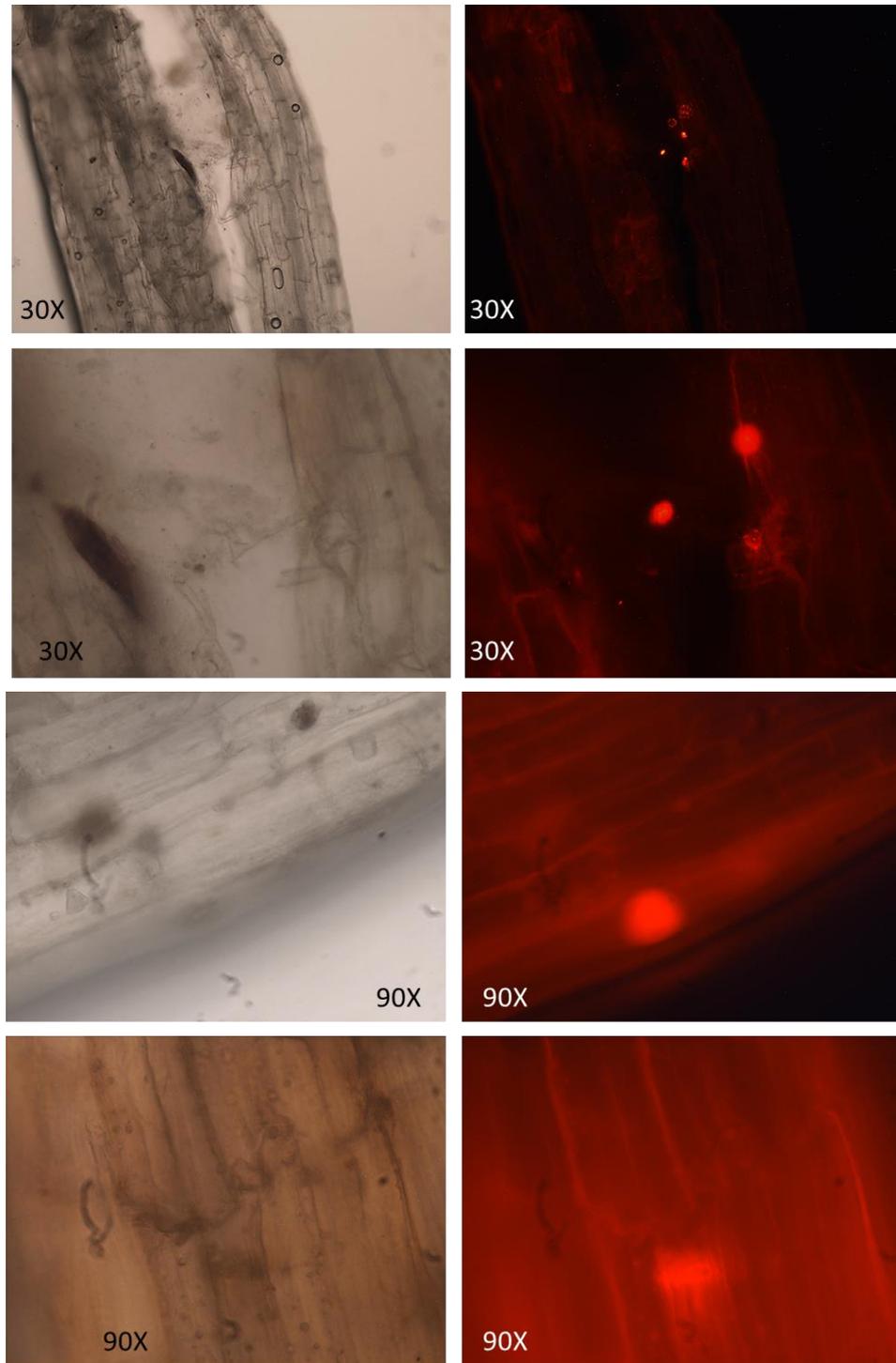


Figura 22. Micrografías de distintos segmentos de raíces de plantas de chile poblano del tratamiento con compost e inoculado con bacterias y hongos micorrízicos arbusculares (B+HMA+C), a los 135 DDS, tomadas con la técnica de microscopia de campo claro (izquierda) y mismo campo de observación con la técnica de epifluorescencia (derecha). Se indica el aumento de cada micrografía.

De manera distinta, no se observó colonización por bacterias transformadas con genes de fluorescencia roja en las células de la raíz en el tratamiento inoculado con bacterias y aplicación de compost (B+C; Figura 23); presentándose esta misma situación en el testigo (Figura 24) y en los tratamientos HMA, C y HMA+C; los cuales no fueron inoculados con la bacteria transformada. Para los tratamientos testigo, H, C, y H+C se esperaba no observar células vegetales con fluorescencia, ya que no se detectó la presencia de bacterias transformadas en el suelo rizosférico (Cuadro 6). Sin embargo, en el tratamiento B+C se esperaba observar fluorescencia en algunas secciones de la raíz, ya que se contó una población de 15.87×10^5 UFC g^{-1} de suelo rizosférico seco (Cuadro 6).

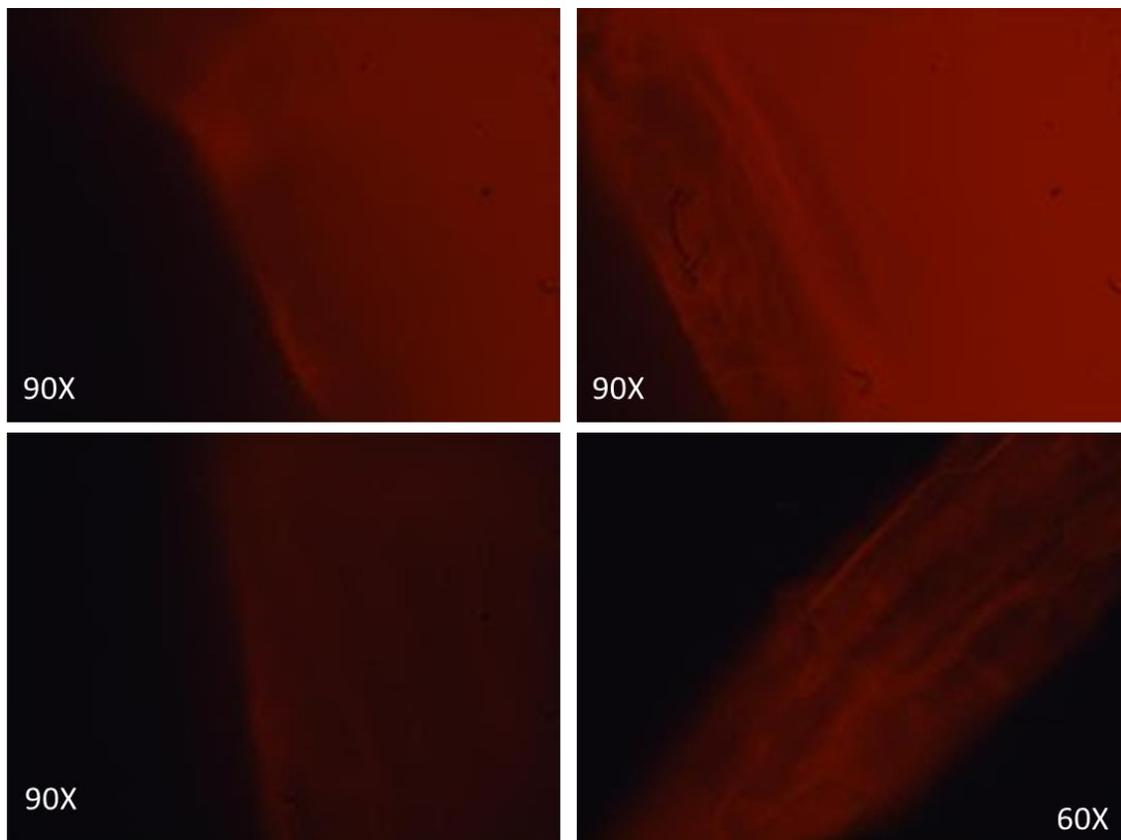


Figura 23. Micrografías de distintos segmentos de raíces de plantas de chile poblano del tratamiento con compost e inoculado con bacterias y compost (B+C), a los 135 DDS, tomadas con la técnica de microscopia de epifluorescencia. Se indica el aumento de cada micrografía.

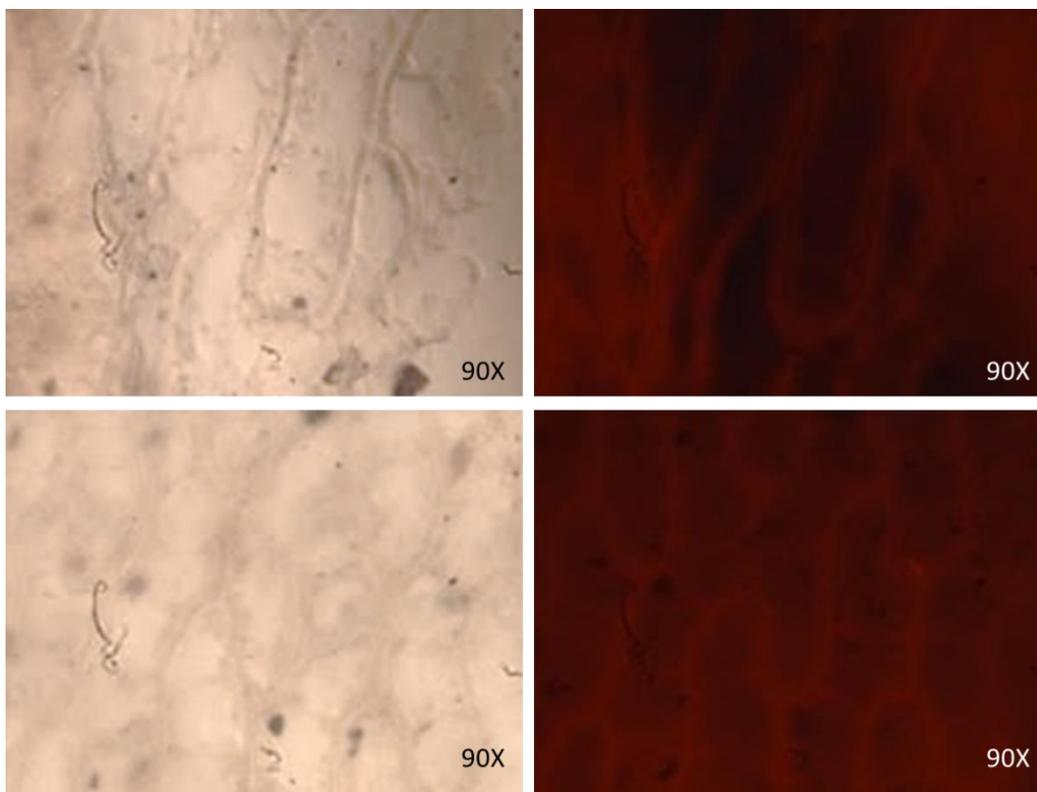


Figura 24. Micrografías de distintos segmentos de raíces de plantas de chile poblano del testigo, a los 135 DDS, tomadas con la técnica de microscopia de campo claro (izquierda) y mismo campo de observación con la técnica de epifluorescencia (derecha). Se indica el aumento de cada micrografía.

5.2.7. Colonización micorrízica

Al final del experimento, 135 DDS, los tratamientos testigo, C, B y B+C no presentaron colonización micorrízica. Los tratamientos HMA, HMA+C, HMA+B+C y HMA+B tuvieron valores similares de colonización (Figura 25). Lo anterior indica que todos los tratamientos inoculados presentaron un grado de colonización micorrízica similar.

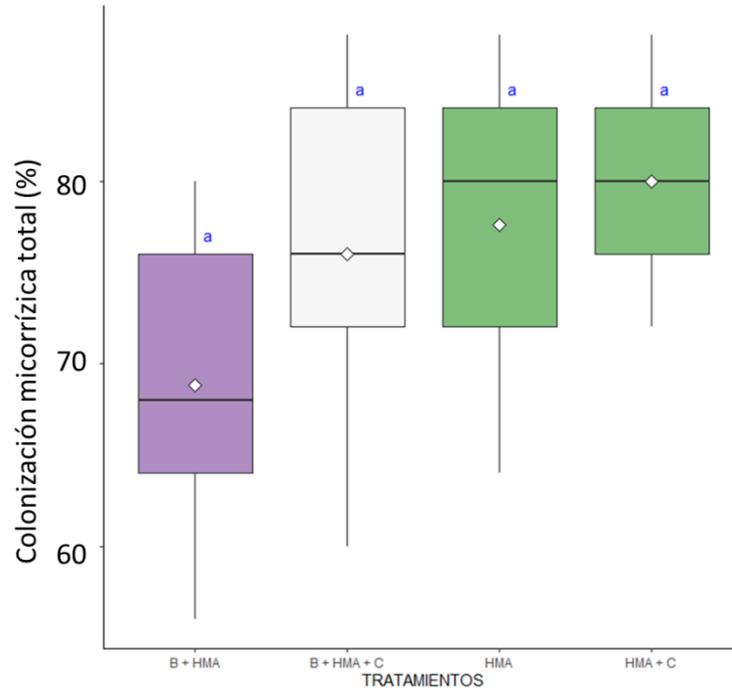


Figura 25. Colonización micorrízica en raíces de chile al final del experimento, 135 DDS. Líneas verticales representan diferencia mínima significativa. Columnas de tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $\alpha=0.05$). C= compost, B= bacterias, HMA= hongos micorrízicos arbusculares. Tratamientos no incluidos en la Figura no presentaron colonización micorrízica de las raíces.

5.2.8. Fotografías de diferencias visuales entre tratamientos

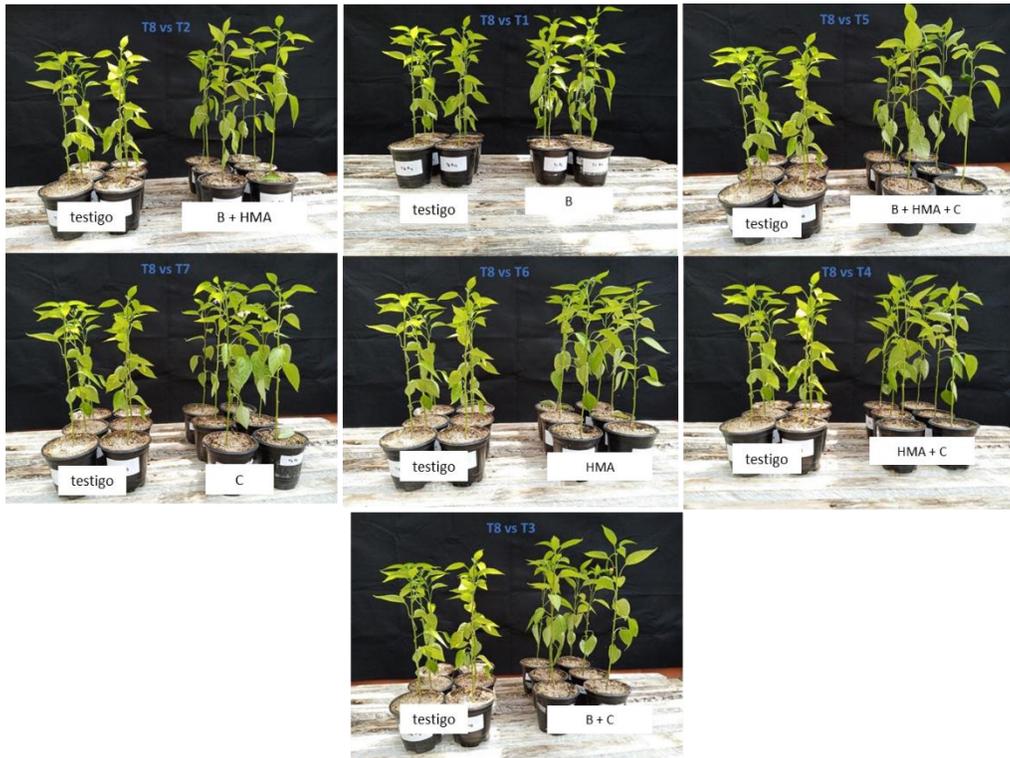


Figura 26. Diferencias visuales entre tratamientos antes de cosecha

VI. CONCLUSIÓN

El factor más importante para obtener mayor altura de planta es la aplicación de compost. En cambio, para aumentar peso seco de raíz y parte aérea, así como contenido de nutrientes (N y P) en parte aérea, el factor más importante es la aplicación conjunta de compost y de los microorganismos benéficos.

El factor que impulsó la presencia de primordios florales fue la aplicación de compost junto con los microorganismos benéficos, así como la aplicación de únicamente microorganismos, lo que beneficia al cultivo al iniciar la floración de manera anticipada.

Los tratamientos C, B+C y B+HMA+C superaron a los tratamientos restantes en producción de frutos.

Los tratamientos inoculados con HMA presentaron reducido crecimiento radical; no obstante, el crecimiento de la parte aérea fue vigoroso.

La aplicación de compost y microorganismos benéficos en chile poblano promueve plantas con mayor crecimiento, precocidad y desarrollo; lo que representa una biotecnología de gran potencial dentro de una agricultura sustentable.

VII. LITERATURA CITADA

- Aguiar, N.O., Olivares, F. L., Novotny, E. H., Dobbss, L. B., Balmori, D. M., Santos-Júnior, L. G., Chagas, J. G., Façanha, A. R., & Canellas, L. P. (2013). Bioactivity of humic acids isolated from vermicomposts at different maturation stages. *Plant and Soil*, 362, 161-174. <https://doi.org/10.1007/s11104-012-1277-5>
- Aguilar-Rincón, V. H., 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. https://www.academia.edu/15941537/Los_chiles_de_M%C3%A9xico_y_su_distribuci%C3%B3n
- Ahemad, M., and Kibret, M. (2014). Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *Journal of King Saud University – Science*, 26, 1-20. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2013.05.001>
- Alcántar, G. G., Sandoval, V. M. (1999). *Manual de Análisis Químico de Tejido Vegetal*. Guía de Muestreo, Preparación, Análisis e Interpretación. Publicación Especial Núm. 10 de la Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, A. C. Chapingo, México. 155 p.
- Alejo-Iturvide, F., Márquez-Lucio, M. A., Morales-Ramírez, I., Vázquez-Garcidueñas, M. S., Olalde-Portugal, V. (2008). Mycorrhizal protection of chili plants challenged by *Phytophthora capsici*. *European Journal Plant Pathology*, 120, 13-20. <https://doi.org/10.1007/s10658-007-9188-7>
- Andrews, M., and Andrews, M. E. (2017). Specificity in legume-rhizobia symbioses. *International Journal of Molecular Sciences*, 18, 705. <https://doi:10.3390/ijms18040705>
- Angulo-Castro, A., Ferrera-Cerrato, R., Alarcón, A., Almaraz-Suárez, J. J., Delgadillo-Martínez, J., Jiménez-Fernández, M. y García-Barradas, O. (2018). Crecimiento y eficiencia fotoquímica del fotosistema ii en plántulas de 2 variedades de *Capsicum annum* L. inoculadas con rizobacterias u hongos micorrícicos arbusculares. *Revista Argentina de Microbiología*, 50(2), 178-188. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2017.03.011>
- Aram, K., and Rangarajan, R. (2005). Compost for nitrogen fertility management of bell pepper in a drip-irrigated plasticultura system. *HortScience*, 40, 577-581. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.40.3.577>
- Arancon, N. Q., Edwards, C. A., Atiyeh, R., Metzger, J. D. (2004). Effects of vermicomposts produced from food waste on the growth and yields of greenhouse peppers. *Bioresource Technology*. 93, 139-144. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2003.10.015>
- Arancon, N., Edwards, C., Bierman, P., Metzger, J., and Luchtd, C. (2005). Effects of vermicomposts produced from cattle manure, food waste and paper waste on the growth and yield of peppers in the field. *Pedobiologia*, 49(4), 297-306. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2005.02.001>

- Armada, E., Azcon, R., Lopez-Castillo, O. M., Calvo-Polanco, M., Ruíz-Lozano, J. M. (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. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2015.03.004>
- Ashraf, M., Hasnain, S., Berge, O., and Mahmood, T. (2004). Inoculating wheat seedlings with exopolysaccharide-producing bacteria restricts sodium uptake and stimulates plant growth under salt stress. *Biology and Fertility of Soils*, 40, 157-162. <https://doi.org/10.1007/s00374-004-0766-y>
- Astier, M. y Hollands, J. (2005). *La evaluación de la sustentabilidad de experiencias agroecológicas en Latinoamérica*. Ediciones Sustentabilidad y Campesinado. Seis experiencias agroecológicas en Latinoamérica. GIRA A.C. Mundiprensa. D. F. México. 262 pp.
- Azadi, H., Schoonbeck, S., Mahmoudi, H., Derudder, B., De Meyer, P., and Witlox, F. (2011). Organic agriculture and sustainable food production system: Main potentials. *Agric. Ecosys. Env*, 144, 92-94. <https://biblio.ugent.be/publication/2029795/file/2029803.pdf>
- Barea, J. M., Pozo, M. J., Azcon, R. and Azcon-Aguilar, C. (2005). Microbial co-operation in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*, 56 (417), 1761-1778. <https://doi.org/10.1093/jxb/eri197>
- Barzana, G., Aroca, R., Paz, J. A., Chaumont, F., Martinez-Ballesta, M. C., Carvajal, M., Ruíz-Lozano, J. M. (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. <https://doi.org/10.1093/aob/mcs007>
- Bashan, Y., and de Bashan, L. E. (2005). Bacteria/Plant Growth-Promoting. In: D. Hillel (ed) *Encyclopedia of soils in the environment*, Elsevier, Oxford, U.K. Vol. 1., pp. 103-115. https://www.researchgate.net/publication/253953454_Bacteria_Plant_growth-promotion
- 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. <https://doi.org/10.3390/agriculture3010188>
- Baum, C., El-Tohamy, W., Gruda, N. (2015). Increasing the productivity and product quality of vegetable crops using arbuscular mycorrhizal fungi: a review. *Scientia Horticulturae*, 187, 131-141. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.03.002>
- Ben-Chaim, A., Borovsky, Y., Falise, M., Mazourek, M., Kang, B., Paran, I., Jahn, M. (2006). QTL analysis for capsaicinoid content in *Capsicum*. *Theoretical and applied Genetics*, 113, 1481-1490. <https://doi.org/10.1007/s00122-006-0395-y>
- Berova, M., Karanatsidis, G., Sapundzhieva, K., Nikolova, V. (2010). Effect of organic fertilization on growth and yield of pepper plants (*Capsicum annuum* L.). *Folia Horticulture*, 22(1), 3-7. <https://doi.org/10.2478/fhort-2013-0143>

- Berg, G. (2009). Plant-microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 84, 11-18. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2092-7>
- Betts, T.A. (1999). Pungency quantitation of hot pepper sauces using HPLC. *Chem. Education*, 76, 240-244. <https://doi.org/10.1021/ed076p240>
- Bhattacharyya, P. N. and Jha, D. K. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28, 1327-1350. <https://doi.org/10.1007/s11274-011-0979-9>
- 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. <https://doi.org/10.1007/s10267-011-0131-6>
- Cabanzo, I., Rodríguez-Mendoza, M. N., García-Cué, J. L., Almaraz-Suárez, J. J., Gutiérrez-Castorena, M. C. (2020). La biofertilización y nutrición en el desarrollo de plántulas de chile serrano. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 11(4), 699-712. <https://doi.org/10.29312/remexca.v11i4.2121>
- Camelo, M. R., Vera, M. S. P., Bonilla, B, R. R. (2011). Mecanismos de acción de las rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal. *Revista Corpoica – Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 12(2), 159-166. <https://revistacta.agrosavia.co/index.php/revista/article/view/227>
- Cameron, K. C., Di, H. J., Moir, J. L. (2013). Nitrogen losses from the soil/plant system: a review. *Annals of Applied Biology*, 162(2), 145-173. <https://doi.org/10.1111/aab.12014>
- Campitelli, P. and Ceppi, S. (2008). Effects of composting technologies on the chemical and physicochemical properties of humic acids. *Geoderma*, 144(1-2), 325-333. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2007.12.003>
- Cartieaux, F., Thibaud, M. C., Zimmerli, L., Lessard, P., Sarrobert, C., David, P., Gerbaud, A., Robaglia, C., Somerville, S., Nussaume, L. (2003). Transcriptome analysis of *Arabidopsis* colonized by a plant-growth promoting rhizobacterium reveals a general effect on disease resistance. *The Plant Journal*, 36(2), 177-188. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2003.01867.x>
- Castillo, C. R., Sotomayor, L. S., Ortiz, C. O., Leonelli, G. C., Borie, F. B., Rubio, R. H. (2009). Effect of Arbuscular mycorrhizal fungi on an ecological crop of chili peppers (*Capsicum annuum* L.). *Chilean Journal of Agricultural Research*, 69, 79-87. https://oes.chileanjar.cl/files/V69_I1_2009_ENG_ClaudiaCastilloR.pdf
- Cekic, F. O., 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. <https://doi.org/10.3906/bot-1008-32>
- Clement, C. R., Cristo-Araújo, De M., D'Eeckenbrugge, G. C., Pereira, A. A. and Picanço-Rodrigues, D. (2010). Origin and domestication of native Amazonian crops. *Diversity*, 2, 72-106. <https://doi.org/10.3390/d2010072>

- Contreras-Cornejo, H. A., Orozco-Granados, O., Ramírez-Ordorica, A., García-Juárez, P., López-Bucio, J. y Macías-Rodríguez, L. (2022). Light and mycelial injury influences the volatile and non-volatile metabolites and the biocontrol properties of *Trichoderma atroviride*. *Rhizosphere*, 22, 2022, epub 100511. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2022.100511>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.07.045>
- Cyphers, A., Escalante, G. P., García-Bárcena, J., García, M. B., López, L. L., Matos, M. E., Nalda, E., Noriega de, A. M. N., Pacheco, J. E., Uriarte, C. M. T. (2009). *Los Chiles de México Catalogo Visual*. Arqueología Mexicana. Edición Especial 32: 90 p.
- David-Santoya, J. J. E., Gómez-Álvarez, R., Jarquín-Sánchez, A., Villanueva-López, G. (2018). Caracterización de vermicompostas y su efecto en la germinación y crecimiento de *Capsicum chinense* Jacquin. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 5(14), 181-190. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-90282018000200181
- Deaquiz, Y., Alvares, J. y Fraile, A. (2008). Efecto de diferentes láminas de riego y sustratos en la propagación de tomate (*Solanum lycopersicum* L.). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 2(1), 54-65. <https://doi.org/10.17584/rcch.2008v2i1.1173>
- Denton, M.D., C.R. Hilla, W.D. Bellottia y D.R. Coventry. (2007). Nodulation of *Medicago truncatula* and *Medicago polymorpha* in two pastures of contrasting soil pH and rhizobial populations. *Applied Soil Ecology*, 35 (2), 441-448. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2006.08.001>
- Doornbos, R. F., van Loon, L. C., and Bakker, P. A. H. M. (2012). Impact of root exudates and plant defense signaling on bacterial communities in the rhizosphere. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 32, 227-243. <https://doi.org/10.1007/s13593-011-0028-y>
- Douds Jr, D. D., Lee, J., Rogers, L., Lohman, M. E., 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(2), 129-145. <https://doi.org/10.1080/01448765.2012.693362>
- Durán, M. y Enríquez, G. (2007). Caracterización química, física y microbiológica de vermicompostes producidos a partir de cinco sustratos orgánicos. *Agronomía Costarricense*, 31, 41-51. <https://www.redalyc.org/pdf/436/43631105.pdf>
- Eshbaugh, W. H. (1983). The genus *Capsicum* (Solanaceae) in Africa. *Bothalia*, 14, 845-848. <https://doi.org/10.4102/abc.v14i3/4.1252>
- Etesami, H. and Maheshwarib, D. (2018). Use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) with multiple plant growth promoting traits in stress agriculture: Action mechanisms and future prospects. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 156, 225-246. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.03.013>

- FAOSAT. (2017). Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistics. Consultado el 29-10-2019. <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC/visualize>
- FAOSTAT. (2020). United Nations, Food and Agriculture Organization. Agricultural trade. <http://www.faostat.fao.org/>. Consultado el 24 de febrero de 2021.
- Fellbaum, C. R., Gachomo, E. W., Beesetty, Y., Choudhari, S., Strahan, G. D., Pfeffer, P. E., Kiers, E. T., Bücking, H. (2012). Carbon availability triggers fungal nitrogen uptake and transport in arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109, 2666-2671. <https://doi.org/10.1073/pnas.1118650109>
- Fliessbach, A., Oberholzer, H., Gunst, L., Mader, P., (2007). Soil organic matter and biological soil quality indicators after 21 years of organic and conventional farming. *Agric. Ecosys. Environ*, 118, 273–284. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2006.05.022>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2010.10.009>
- Foley, J. A., Ramankutty, N., Brauman, K. A., Cassidy, E. S., Gerber, J. S., Johnston, M., and Balzer, C. (2011). Solutions for a cultivated planet. *Nature*, 478, 337-342. <https://doi.org/10.1038/nature10452>
- Gamalero, E., Trotta, A., Massa, N., Copetta, A., Martinotti, M. G., Berta, G. (2004). Impact of two fluorescent pseudomonads and an arbuscular mycorrhizal fungus on tomato plant growth, root architecture and P acquisition. *Mycorrhiza*, 14, 185-192. <https://doi.org/10.1007/s00572-003-0256-3>
- García-Ruiz, R., Ochoa, V., Hinojosa, M. B., Carreira, J. A. (2008). Suitability of enzymatic activities for the monitoring of soil quality improvement in organic agricultural systems. *Soil Biology and Biochemistry*, 40, 2137-2145. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.03.023>
- Glick, B. R. (2010). Using soil bacteria to facilitate phytoremediation. *Biotechnology Advances*, 28(3), 367-374. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2010.02.001>
- Glick, B. R. (2012). Plant growth promoting bacteria: mechanisms and applications. *Scientifica*, 2012, 1–15. <https://doi.org/10.6064/2012/963401>
- Glick, B. R., and Bashan, Y. (1997). Genetic manipulation of plant growth-promoting bacteria to enhance biocontrol of phytopathogens. *Biotechnology Advances*, 15(2), 353-378. [https://doi.org/10.1016/S0734-9750\(97\)00004-9](https://doi.org/10.1016/S0734-9750(97)00004-9)
- Glick, B. R., Karaturovic, D. M., and Newell, P. C. (1995). A novel procedure for rapid isolation of plant growth promoting pseudomonads. *Canadian Journal of Microbiology*, 41(6), 533-536. <https://doi.org/10.1139/m95-070>
- Glick, B. R., Liu, C., Ghosh, S., Dumbroft, E. B. (1997). Early development of canola seedlings in the presence of the plant growth-promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2.

- Soil Biology and Biochemistry*, 29(8), 1233-1239. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(97\)00026-6](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(97)00026-6)
- Glick, B. R., Todorovic, B., Czarny, J., Cheng, Z., Duan, J., and Mcconkey, B. (2007). Promotion of Plant Growth by Bacterial ACC Deaminase. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 26(5-6), 227-242. <https://doi.org/10.1080/07352680701572966>
- Gómez, A. R., Lázaro, J. G. y León, N. A. A. (2008). Producción de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) y Rábano (*Rhabanus sativus* L.) en huertos biointensivos en el trópico húmedo de Tabasco. *Universidad Científica*. 24, 11-20. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0186-29792008000400002&script=sci_abstract&lng=pt
- Gómez, C. G. y Corlay, C. L. (2007). Microbiota edáfica y su importancia en la agricultura. In: R. Ferrera-Cerrato y A. Alarcón (eds.) *Microbiología Agrícola: Hongos, bacterias, micro y macrofauna, control biológico, planta-microorganismo*. TRILLAS, México. Pp. 39-55.
- González, C., Alarcón, A. y Ferrera-Cerrato, R. (2008). Biodiversidad funcional de los hongos micorrizicos arbusculares en zonas áridas y semiáridas. In: N. M-Montaña A., Camargo-Ricalde, S. L., García-Sánchez, R., Monroy-Ata, A. (eds.), *Micorrizas arbusculares en ecosistemas áridos y semiáridos*. Mundi-Prensa, Instituto Nacional de Ecología-SEMARNAT, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Facultad de Estudios Superiores-Zaragoza, UNAM, México, D.F. pp. 11-24.
- 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. <https://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.1049.6892&rep=rep1&type=pdf>
- Gutiérrez-Miceli, F. A., García-Gómez, R.C., Rincón, R. R., Abud-Archila, M., Olivia, L. L. M. A., Cruz, J. G. M., Dendooven, L. (2008). Formulation of a liquid fertilizer for sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) using vermicompost leachate. *Bioresource Technology*, 99(14), 6174-6180. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.12.043>
- Hayat, R., Ali, S., Amara, U., Khalid, R., Ahmed, I. (2010). Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. *Annals of Microbiology*, 60, 579-598. <https://doi.org/10.1007/s13213-010-0117-1>
- Hernández, V. S., Dávila, P. A., Oyama, K. (1999). Síntesis del conocimiento taxonómico, origen y domesticación del género *Capsicum*. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 64, 65-84. <https://www.botanicalsciences.com.mx/index.php/botanicalSciences/article/view/1583>
- Hoben, J. P., Gehl, R. J., Millar, N., Grace, P. R., Robertson, G. P. (2011). Nonlinear nitrous oxide (N₂O) response to nitrogen fertilizer in on-farm corn crops of the US Midwest. *Global Change Biology*, 17, 1140-1152. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2010.02349.x>
- Hodge, A., Storer, K. (2015). Arbuscular mycorrhiza and nitrogen: implications for individual plants through to ecosystems. *Plant Soil*, 386, 1-19. <https://doi.org/10.1007/s11104-014-2162-1>

- Hudson, H. (1992). *Fungal biology*. Cambridge University Press, Great Britain.
- IBPGR. (1983). International Board for Plant Genetic Resources. Wageningen. The Netherlands.
- INIFAP. (2011). *Ancho Mulato AM-VR y ancho poblano AP-VR; nuevas variedades de chile para el altiplano de México*. Campo Experimental San Luis. Desplegable para productores Num 45. <http://www.inifapcirne.gob.mx/Biblioteca/Publicaciones/878.pdf>
- Izco, J. (2004). *Botánica*. Segunda edición. Mc. Graw Hill – Interamericana. México. 508 pp.
- Jansa, J., Bukovsk´a, 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. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00134>
- 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. <https://doi.org/10.1023/B:BILE.0000019555.87121.34>
- Kaymak, H. C. (2010). Potential of PGPR in Agricultural Innovations. In: Maheshwari, D. (eds) *Plant Growth and Health Promoting Bacteria*. Microbiology Monographs. (Vol 18, pp. 45-79). Springer. Berlín, Heidelberg. DOI:[10.1007/978-3-642-13612-2_3](https://doi.org/10.1007/978-3-642-13612-2_3)
- Kloepper, J. W., and Schroth, M. N. (1978). Plant growth promoting rhizobacteria on radishes. In: *Proceedings of the 4th international conference on plant pathogenic bacteria*. Angers, France. 879-882.
- Kloepper, J. W., Schroth, M. N., and Miller, T. D. (1987). Effects of rhizosphere colonization by plant growth promoting rhizobacteria on radish. *Proceeding of international Conference on Plant Pathogenic Bacteria*, 2, 879-882.
- Klopper, J. W. (1994). Plant growth-promoting rhizobacteria (other systems). In: *Azospirillum/Plant Associations*, Okhon Y (ed.). CRC Press.
- Kumar, A., Vandana, Singh, M., Singh, P. P., Singh, S. K., Singh, P. K., and Pandey, K. D. (2016). Isolation of plant growth promoting rhizobacteria and their impact on growth and curcumin content in *Curcuma longa* L. *Biocatal. Agric. Biotechnol*, 8, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2016.07.002>
- Lara, M. C., Villalba, A. M., Oviedo, Z. L. E. (2007). Bacterias fijadoras asimbióticas de nitrógeno de la zona agrícola de San Carlos. Córdoba, Colombia. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 9, 6-14.
- Lehmann, A., Rillig, M. C. (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., Lopedota, 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.

- Leos-Escobedo, L., Delgadillo-Martínez, J., Favela-Chávez, E., García-Carrillo, M., Moreno-Reséndez, A., Preciado Rangel, P., Montano-Durán, L. (2019). Rizobacterias promotoras del crecimiento y resistencia a patógenos en Chile que favorecen su micorrización. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 10(3), 601-614.
- Loaiza-Figueroa, F., Ritland, K., Laborde-Cancino, J. A., Tanksley, S. D. (1989). Patterns of genetic variation of the genus *Capsicum* (Solanaceae) in Mexico. *Plant Systematics and Evolution*, 165, 159-188. <https://doi.org/10.1007/BF00936000>
- Long-Solis, J. (1986). *Capsicum* y cultura. *La historia del chilli*. Editorial Fondo de Cultura Económica, México, 178 pp.
- López-Moctezuma, M., Ferrera, C. R., Farias, L. J., Aguilar, E. S., Bello, F. R., y López, A. J. (2005). Micorriza arbuscular, *Bacillus* y sustrato enriquecido con vermicomposta en el desarrollo de plantas de papayo. *TERRA Latinoamericana*, 23(4), 523-535. <https://www.redalyc.org/pdf/573/57311146011.pdf>
- López-Arcos, M., Poot-Matu, J. E., Mijangos-Cortez, M. A. (2012). Respuesta del Chile habanero (*Capsicum chinense* L. Jacq) al suministro de abono orgánico en Tabasco, México. *Revista Científica UDO Agrícola*, 12(2), 307-312. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4688425>
- Lugtenberg, B., and Kamilova, F. (2009). Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria. *Annual Review of Microbiology*, 63, 541-556. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.62.081307.162918>
- Ma, Y., Prasad, M. N. V., Rajkumar, M., Freitas, H. (2011). Plant growth promoting rhizobacteria and endophytes accelerate phytoremediation of metalliferous soils. *Biotechnology Advances*, 29(2), 248-258. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2010.12.001>
- Malloch, D. W., Pirozynski, K. A., and Haven, P. H. (1980). Ecological and evolutionary significance of mycorrhizal symbiosis in vascular plants (A review). *Proc. Natl. Acad. Sci*, 77(44), 2113-2118. <https://doi.org/10.1073/pnas.77.4.211>
- 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. <https://www.taylorfrancis.com/chapters/edit/10.1201/9780203381151-11/pungency-principles-capsicum-analytical-determinations-toxicology-manirakiza-covaci-schepens>
- Manjarrez-Martínez, M. J., Ferrera-Cerrato, R. y González-Chávez, M. C. (1999). Efecto de la vermicomposta y la micorriza arbuscular en el desarrollo y tasa fotosintética de Chile serrano. *Terra*, 17(1), 9-15. <https://www.redalyc.org/pdf/573/57317102.pdf>
- Marschner, H., and Dell, B. (1994). Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant Soil*, 159(1), 89-102. <https://doi.org/10.1007/BF00000098>
- Mena-Violante, H., Ocampo-Jimenez, O., Dendooven, L., Martínez-Soto, G., González-Castañeda, J., Davies, F. T., 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. <https://doi.org/10.1007/s00572-006-0043-z>
- 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. <https://docplayer.es/74490578-Recopilacion-y-analisis-de-la-informacion-existente-de-las-especies-del-genero-capsicum-que-crecen-y-se-cultivan-en-mexico.html>
- Moreno, R. A., Rodríguez, D. N., Reyes, C. J. L., Márquez-Quiroz, C. y Reyes, G. J. (2014). Comportamiento del chile húngaro (*Capsicum annuum*) en mezclas de vermicompost-arena bajo condiciones protegidas. *Rev. FCA UNCUYO* 46(2), 97-111. http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S1853-86652014000200008&script=sci_abstract&tlng=es.
- Moreno, P. E., Mora, A. R., Sánchez, C. F., García-Pérez, V. (2011). Fenología y rendimiento de híbridos de pimiento morrón. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 17, 5-18. <https://pdfs.semanticscholar.org/0751/cc34b3e6916c7ce3b42bbcf05728b97bdcc.pdf>
- Moreno-Rojas, K. (2013). *Chiles y salsas en México*. Un sabor a identidad. INAH, México D.F. Disponible en: <http://www.inah.gob.mx/es/reportajes/597-chiles-y-salsas-en-mexico-un-sabor-a-identidad>.
- Muthukumar, T., Priyadharsini, P., Uma, E., Jaison, S., Pandey, R. R. (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. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-9466-9_3
- Nadeem, S. M., Ahmad, M., Zahir, Z. A., 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. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.12.005>
- Nadeem, S. M., Zahir, Z. A., Naveed, M., Arshad, M. (2007). Preliminary investigations on inducing salt tolerance in maize through inoculation with rhizobacteria containing ACC deaminase activity. *Canadian Journal of Microbiology*, 53(10), 1141-1149. <https://doi.org/10.1139/W07-08>
- Nadeem, S. M., Zahir, Z. A., Naveed, M., Arshaf, M. (2010). Microbial ACC-Deaminase: Prospects and Applications for Inducing Salt Tolerance in Plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 29(6), 360-393. <https://doi.org/10.1080/07352689.2010.524518>
- Naegelé, R. P., Mitchell, J., and Hausbeck, M. K. (2016). Genetic Diversity, Population Structure, and Heritability of Fruit Traits in *Capsicum annuum*. *PloS One*, 11, e0156969. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0156969>
- Najafi, A., Ardakani, M. R., Rejali, F., and Sajedi, N. (2012). Response of Winter barely to co-inoculation with *Azotobacter* and mycorrhiza fungi influenced by plant growth promoting

- rhizobacteria. *Annals of Biological Research*, 3(8), 4002-4006. <https://www.scholarsresearchlibrary.com/articles/response-of-winter-barely-to-coinoculation-with-azotobacter-and-mycorrhiza-fungi-influenced-by-plant-growth-promoting-rh.pdf>
- Nava-Ochoa, E., Antunes-Ricardo, M. and Guajardo-Flores, D. (2021). Nano-sized carriers for capsaicinoids with topic analgesic and anti-inflammatory effects. *Journal of Biotechnology*, 333 (10), 77-85. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2021.04.009>
- Negreros-Castillo, P., Apodaca-Martinez, M., Mize, C. W. (2010). Efecto de sustrato y densidad en la calidad de plántulas de cedro, caoba y roble. *Madera y bosques*, 16(2), 7-18. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-04712010000200001
- Nieto-Garibay, A., Murillo, A. B., Troyo, D. E., Larrinaga, M. J. A., y García, H. J. L. (2002). El uso de composta como alternativa ecológica para la producción sostenible del chile (*Capsicum annum* L.) en zonas áridas. *Interciencia*, 27(8), 417-421. http://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S0378-18442002000800006&script=sci_arttext.
- Nuez, F., Gil, O. R., Costa, J. (2003). El cultivo de pimientos, Chiles y Ajíes. Mundí-Prensa. España. 15 pp.
- Ordookhani, K., Khavazi, K., Moezzi, A., Rejali, F. (2010). Influence of PGPR and AMF on antioxidant activity, lycopene and potassium contents in tomato. *African Journal of Agricultural Research*, 5(10), 1108-1116. <https://academicjournals.org/journal/AJAR/article-full-text-pdf/4F702DA30116>
- Oropeza, J. y Russian, T. (2008). Efecto del vermicompost sobre el crecimiento en vivero de la naranja “criollo” sobre tres patrones. *Agronomía Tropical*, 58(3), 289-297. http://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S0002-192X2008000300009&script=sci_arttext.
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2010.12.014>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.12.014>
- Padmavathi, T., Dikshit, R., Seshagiri, S. (2015). Effect of *Rhizophagus* spp. and plant growth-promoting *Acinetobacter junii* on *Solanum lycopersicum* and *Capsicum annum*. *Brazilian Journal of Botany*, 38, 273-280. <https://doi.org/10.1007/s40415-015-0144-z>
- Padmavathiamma, P., Li, L. Y., Kumari, U. R. (2008). An experimental study of vermi-biowaste composting for agricultural soil improvement. *Bioresource Technology*, 99(6), 1672-1681. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.04.028>
- Paran, I., Ben-Chaim, A., Byoung-Cheorl, K., Jahn, M. (2007). Capsicum. In: *genome mapping and molecular breeding in plants*. Kole C (Ed). Springer-Verlag Berlin Heidelberg Vegetables 5: 209-226. https://doi.org/10.1007/978-3-540-34536-7_7

- Patten, C. L. and Glick, B. R. (2002). Role of *Pseudomonas putida* indolacetic acid in development of the host plant root system. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(8), 3795-3801. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.8.3795-3801.2002>
- Perry, L. and Flannery, K. V. (2007). Precolumbian use of chili peppers in the Valley of Oaxaca, Mexico. *Proceedings of the National Academy of Science*, 104(29), 11905-11909. <https://doi.org/10.1073/pnas.070493610>
- Phillips, J. M. & D.S. Hayman. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 55, 158-161. <https://srv2.freepaper.me/n/lzmr7csEoCQdur0Pa3pV0A/PDF/f1/f1ebcef53e4b18d3c3a48bda7f24db52.pdf>
- Phillips, L. A., Germida, J. J., Farrella, R. E., and Greer, C. W. (2008). Hydrocarbon degradation potential and activity of endophytic bacteria associated with prairie plants. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(12), 3054-3064. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.09.006>
- Plassard, C., Fransson, P. (2009). Regulation of low molecular weight organic acid production in fungi. *Fungal Biology Reviews*, 23, 30-39. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2009.08.002>
- Priyank, H. M., Chinnannan, K., Kadirvelu, K., Divya, K. L., Venkatasalam, E. P., Sakthivel, S., Ramkumar, G., Saranya, Ch., Rajashree, S. (2019). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A potencial alternative tool for nematodes bio-control. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 17, 119-128. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.11.009>
- Pulido, L., Medina, N., y Cabrera, A. (2003). La biofertilización con rizobacterias y hongos micorrícicos arbusculares en la producción de posturas de tomate (*Lycopersicon esculentum* mill.) y cebolla (*Allium cepa* l.). I. Crecimiento vegetativo. *Cultivos tropicales*, 24 (1), 15-24. <https://www.redalyc.org/pdf/1932/193218221003.pdf>
- Quiroz-Sarmiento, V. F., Almaraz-Suarez, J. J., Sánchez-Viveros, G., Argumedo-Delira, R. y González-Mancilla, A. (2019). Biofertilizantes de rizobacterias en el crecimiento de plántulas de chile Poblano. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 10(8), 1733-1745. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i8.1548>
- Raines, D.J., Sanderson, T. J., Wilde, E. J., Duhme-Klair, A. K. (2015). Siderophores. *Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering*. Elsevier, Waltham, 1-12 <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.11040-6>
- Ramírez, V. J. y Cova, S. R. (1980). Supervivencia de *Phytophthora capsici* Leo., agente causal de la marchitez del chile. *Agrociencia*, 39, 9-12. <https://pascal-francis.inist.fr/vibad/index.php?action=getRecordDetail&idt=PASCALAGROLINEINRA8110485875>
- Ramírez-Gama, R. M., Tsuzuki-Reyes, G. y Urzúa-Hernández, M. C. (2020). Técnicas de cuantificación y aislamiento de los microorganismos del suelo y la rizósfera: bacterias, hongos, actinobacterias y otros grupos microbianos. In: J. Delgadillo-Martínez *et al.* (eds.)

- Microbiología Aplicada a la Agricultura y Agroecosistemas Principios y técnicas para su investigación*. Editorial del Colegio de Postgraduados. Texcoco, México. Pp. 7-47.
- Redecker, D., Schüßler, A., Stockinger, H., Stürmer, S. L., Morton, J. B., and Walker, C. (2013). An evidence-based consensus for the classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota). *Mycorrhiza*, 23, 515-531. <https://doi.org/10.1007/s00572-013-0486-y>
- Rennie, R. J. (1981). A single medium for the isolation of acetylene-reducing (dinitrogen-fixing) bacteria from soils. *Canadian Journal of Microbiology*, 27, 8-14. <https://doi.org/10.1139/m81-002>
- Rodríguez, J., Peña, O. B. V., Gil, M. A., Martínez, C. B., Manzo, F., Salazar, L. L. (2007). Rescate in situ del chile “poblano” en Puebla, México. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 30, 25-32. <https://www.redalyc.org/pdf/610/61030103.pdf>
- Rohyadi, A. (2008). Growth responses of external hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi to acidic soil conditions and their effects on cowpea growth. *Microbiology Indonesia*, 2, 22-26. <https://doi.org/10.5454/mi.2.1.5>
- Rueda-Puente, E. O., Murillo-Amador, B., Castellanos-Cervantes, T., García-Hernández, J. L., Tarazón-Herrera, M. A., Moreno, S. M., Gerlach, L. E. B. (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. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.04.002>
- 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*, 170, 74–79. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2012.08.022>
- Ruíz-Sánchez, M., Armada, E., Muñoz, Y., García de Salamone, I. E., Aroca, R., Ruíz-Lozano, J. M., 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. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2010.12.019>
- Saharan, B. S., and Nehra, V. (2011). Plant Growth Promoting Rhizobacteria.: A Critical Review. *Life Sciences and Medicine Research*, 2011(21), 1-30. https://www.researchgate.net/publication/284340739_Plant_growth_promoting_rhizobacteria_a_critical_review
- Salazar-Jara, F.I. y Juárez-Lopez, P. (2013). Requerimiento macronutricional en plantas de chile (*Capsicum annuum* L.). *Revista Biociencias*, 2(2), 27-34. <http://dspace.uan.mx:8080/jspui/handle/123456789/724>
- Sánchez, P. M. (2007). *Las endomicorrizas: expresión bioedáfica de importancia en el trópico*. Editorial Universidad Nacional de Colombia (Sede Palmira), Facultad de Ciencias Agropecuarias. p. 351. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/59348?show=full>

- Sanchez-Monedero, M. A., Roig, A., Cegarra, J., Bernal, M. P., Noguera, P., Abad, M., & Antón A. (2004). Composts as media constituents for vegetable transplant production. *Compost Sci. Util*, 12, 161-168. <https://doi.org/10.1080/1065657X.2004.10702175>.
- Sandhya, V., SK, Z. A., Grover, M., Reddy, G., Venkateswarlu, B. (2009). Alleviation of drought stress in sunflower seedlings by the exopolysaccharides producing *Pseudomonas putida* strain GAP-P45. *Biology and Fertility of soils*, 46, 17-26. <https://doi.org/10.1007/s00374-009-0401-z>
- Sangwan, P., Kaushik, C. P., Garg, V. K. (2008). Vermiconversion of industrial sludge for recycling the nutrients. *Bioresource Technology*, 99(18), 8699-8704. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.04.022>
- Saravanakumar, D., Vijayakumar, C., Kumar, N., Samiyappan, R. (2007). PGPR-induced defense responses in the tea plant against blister blight disease. *Crop Protection*, 26(4), 556-565. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.04.022>
- Schüßler, A., Schwarzott, D., Walker, C. (2001). A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycological Research*, 105, 1413-1421. <https://doi.org/10.1017/S0953756201005196>
- Segarra, G., Van der Ent, S., Trillas, I., Pieterse, C. M. J. (2009). MYB72, a node of convergence in induced systemic resistance triggered by a fungal and bacterial beneficial microbe. *Plant biology*, 11, 90-96. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.2008.00162.x>
- Sensoy, S., Demir, S., Turkmen, O., Erdinc, C., Savur, O. B. (2007). Responses of some different pepper (*Capsicum annuum* L.) genotypes to inoculation with two different arbuscular mycorrhizal fungi. *Scientia Horticulturae*, 113, 92-95. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2007.01.023>
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2020). *Un panorama del cultivo del chile*. SIAP. México. 21 pp.
- Smil, V. (1999). Nitrogen in crop production: An account of global flows. *Global Biogeochemical Cycles*, 13, 647-662. <https://doi.org/10.1029/1999GB900015>
- Smith, F. W., Rae, A. L., Hawkesford, M. J. (2000). Molecular mechanisms of phosphate and sulphate transport in plants. *Biomembranes*, 1465, 236-245. [https://doi.org/10.1016/S0005-2736\(00\)00141-3](https://doi.org/10.1016/S0005-2736(00)00141-3)
- Smith, S.E., Manjarrez, M., Stonor, R., McNeill, A., Smith, F.A. (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. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2015.07.002>
- Smith, S. E., Read, D. J. (2008). *Mycorrhizal symbiosis*. (3rd ed.) Academic Press, New York, London, Burlington, San Diego. <https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=qLciOJaG0C4C&oi=fnd&pg=PP1&dq#v=onepage&q&f=false>

- Spiertz, J. H. J. (2010). Nitrogen, sustainable agriculture and food security. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 30, 43-55. <https://doi.org/10.1051/agro:2008064>
- Taiz, L. & Zeiger E. (2010). *Plant physiology* (5th ed., 630 p). Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts U.S.A.
- 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. https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0718-95162013000100006&script=sci_arttext&tlng=en
- Tarley, C. R. T. and Arruda, M. A. Z. (2004). Biosorption of heavy metals using rice milling by-products. Characterisation and application for removal of metals from aqueous effluents. *Chemosphere*, 54, 987-995. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2003.09.001>
- Tawaraya, K., Naito, M., Wagatsuma, T. (2006). Solubilization of insoluble inorganic phosphate by hyphal exudates of arbuscular mycorrhizal fungi. *Journal of Plant Nutrition*, 29(4), 657-665. <https://doi.org/10.1080/01904160600564428>
- Tejada, M., Gómez, I., Hernández, T., García, C. (2010). Utilization of vermicomposts in soil restoration: Effects on soil biological properties. *Soil Science Society of America Journal*, 74(2), 525-532. <https://doi.org/10.2136/sssaj2009.0260>
- Terry, A. E. y Leyva, G. A. (2006). Evaluación agrobiológica de la coinoculación micorrizas-rizobacterias en tomate. *Agronomía Costarricense*, 30, 65-73. <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/agrocost/article/view/6832>
- Toljander, J. F., Lindahl, B. D., Paul, L. R., Elfstrand, M., Finlay, R. D. (2007). Influence of arbuscular mycorrhizal mycelial exudates on soil bacterial growth and community structure. *FEMS Microbiology Ecology*, 61, 295-304. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2007.00337.x>
- Ullé, J., Fernandez, F. y Rendina, A. (2004). Evaluación analítica del vermicompost de estiércoles y residuos de cereales y su efecto como fertilizante orgánico en el cultivo de lechugas mantecosas. *Horticultura Brasileira*, 22(2), 434. https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-informe_tec_2009_ctro_reg_ba_n_1_.pdf#page=75
- Valles, G., Lugo, J., Rodríguez, Z., Díaz, L. (2009). Efecto del sustrato y la distancia de siembra entre plantas sobre el crecimiento de plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.) en un sistema hidropónico sin cobertura. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 26, 159-178. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-78182009000200002.
- Van Loon, L. C., Bakker, P. A. H. M., Pieterse, C. M. J. (1998). Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annual review of phytopathology*, 36, 453-483. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.36.1.453>
- Vazallo, S. N., Ramírez, L. T., Carranza, L. T., García, B. Z., Bernilla, B. S. (2013). Efecto de la inoculación de *Rhizobium etli* y *Trichoderma viride* sobre el crecimiento aéreo y radicular de *Capsicum annum* var. *longum*. *Revista Rebiolest*, 1(1), 11-21. <https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/ECCBB/article/view/176>

- Vilmorin, D. F. (1977). *El cultivo del pimiento dulce tipo Bell*. Ed. Diana. México. 314 pp.
- Vimal, S. R., Singh, J. S., Arora, N. K., Singh, S. (2017). Soil-plant-microbe interactions in stressed agriculture management: A Review. *Pedosphere*, 27, 177-192. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(17\)60309-6](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(17)60309-6)
- Vodnik, D., Grcman, H., Macek, I., van Elteren, J. T., 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. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.11.016>
- Wang, D. and Bosland, P. W. (2006). The Genes of *Capsicum*. *HortScience*, 41, 1169-1187. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.41.5.1169>
- Wehner, J., Antunes, P. M., Powell, J. R., Mazukatow, J., Rillig, M. C. (2010). Plant pathogen protection by arbuscular mycorrhizas: a role for fungal diversity? *Pedobiologia*. 53, 197-201. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2009.10.002>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.03.141>
- Weyens, N., van der Lelie, D., Taghavi, S., Newman, L., Vangronsveld, J. (2009). Exploiting plant-microbe partnerships to improve biomass production and remediation. *Trends in Biotechnology*, 27(10), 591-598. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2009.07.006>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2013.11.009>
- 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. <http://ijappjournal.com/.../334-345.pdf>
- Zewdie, Y., Bosland, PW. (2000). Evaluation of genotype, environment, and genotype-by-environment interaction for capsaicinoids in *Capsicum annuum* L. *Euphytica*. 111, 185-190. <https://doi.org/10.1023/A:1003837314929>
- Zahir, Z. A., Arshad, M., Frankenberger, W. T. (2004). Plant Growth Promoting Rhizobacteria: Applications and Perspectives in Agriculture. *Advances in Agronomy*, 81, 97-168. <https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=W3y7ht9A6x8C&oi=fnd&pg=PA97&dq#v=onepage&q&f=false>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2014.11.016>