

Micorrización en *Capsicum annuum* L. para promoción de crecimiento y bioprotección contra *Phytophthora capsici* L.*

Mycorrhizae in *Capsicum annuum* L. to promote growth and biosecurity against *Phytophthora capsici* L.

Alfredo Reyes Tena¹, Evangelina Esmeralda Quiñones Aguilar², Gabriel Rincón Enríquez² y Luis López Pérez^{1§}

¹Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales-Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Carretera Morelia-Zinapécuaro, km 9.5, Col. El Trébol, 58880 Tarímbaro, Michoacán, México. Tel. 01 (443) 2958323. (eyesnator@hotmail.com). ²Biotecnología Vegetal, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ). Av. Normalistas No. 800, Colinas de la Normal. 44270, Guadalajara, Jalisco. México. Tel: 01 (33) 33455200. (equinones@ciatej.mx; grincon@ciatej.mx). §Autor para correspondencia: lexquilax@yahoo.com.mx.

Resumen

Con el objetivo de evaluar la promoción del crecimiento y la bioprotección de consorcios de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) contra *Phytophthora capsici* (PC) en plantas de chile (*Capsicum annuum* L.) var. poblano y serrano, en el año 2014 en el IIAF de la UMSNH se realizó un experimento en condiciones de invernadero evaluando siete inóculos de HMA, un control positivo (*Rhizophagus intraradices*) y un control negativo (sin HMA). A los 56 días después de la inoculación (DDI) de las plantas con los HMA, se registró altura de planta (AP), diámetro del tallo (DT), número de hojas (NH), porcentaje de colonización micorrízica (PCM) y densidad de esporas de HMA. A los 75 DDI, las plantas se infectaron con una suspensión de zoosporas de PC, a los 95 DDI se evaluó el nivel de daño de las plantas mediante una escala cualitativa ordinal de severidad de seis niveles y se registró la biomasa fresca. Los datos se sometieron a análisis de varianza y prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). Se encontraron PCM de hasta 93.3%. En plantas de chile serrano, el consorcio micorrízico Cerro del Metate (CM) registró los mayores valores de AP, DT y NH, mientras que en chile poblano sólo hubo diferencias en AP. Las plantas inoculadas con CM en ambas variedades de chile, presentaron un nivel de severidad de 1 y mayor biomasa fresca aérea (15.4 y 6.95

Abstract

In order to evaluate the promotion of growth and bioconsortia arbuscular mycorrhizal fungi (HMA) against *Phytophthora capsici* (PC) in pepper plants (*Capsicum annuum* L.) var. poblano and serrano, in 2014 in the IIAF of the UMSNH an experiment was conducted under greenhouse conditions to evaluate seven inoculates HMA, a positive control (*Rhizophagus intraradices*) and a negative control (without HMA). At 56 days after inoculation (DDI) of the plants with the HMA, plant height (AP), stem diameter (DT), number of leaves (NH), percentage of mycorrhizal colonization (PCM) and density was recorded HMA spores. At 75 DDI, the plants were infected with a zoospore suspension of PC, to the level of 95 DDI plant damage was assessed by an ordinal six levels of severity qualitative scale and fresh biomass was recorded. The data were subjected to analysis of variance and Tukey test ($p \leq 0.05$). The PCM found to 93.3%. In serrano pepper plants, the mycorrhizal consortium Cerro del Metate (CM) recorded the highest values of AP, DT and NH, poblano pepper while there were only differences in AP. The inoculated with CM in both varieties of pepper, plants showed a severity level 1 and increased biomass fresh air (15.4 and 6.95 g) compared

* Recibido: enero de 2016
Aceptado: marzo de 2016

g) en comparación con plantas no micorrizadas (8.23 g y 2.83 g). Los resultados mostraron que CM promovió el crecimiento y tuvo un efecto bioprotector contra PC.

Palabras clave: *Rhizophagus intraradices*, antagonismo, control biológico, marchitez del chile, micorrizas.

Introducción

La marchitez causada por *Phytophthora capsici* (PC) es la principal enfermedad que ataca al cultivo de chile (*Capsicum annuum* L.). El nivel de daño de esta enfermedad en México es muy elevado, el rendimiento puede bajar entre 25 y 80% (García-Rodríguez *et al.*, 2010). Para el control de esta enfermedad se han desarrollado diferentes estrategias basadas en la aplicación de productos químicos, que sin embargo no logran resultados satisfactorios sobre el fitopatógeno además de que estos generan resistencia (Pérez-Moreno *et al.*, 2003). En los últimos años ha surgido un mayor interés por la búsqueda de alternativas de control que sean ecológicas y sostenibles. La más común es el control biológico, el cual consiste en la aplicación de enemigos naturales, principalmente microorganismos antagonistas contra agentes fitopatógenos. Entre los más estudiados están: *Trichoderma harzianum* (Ezziyyani *et al.*, 2004), *Bacillus subtilis* (Jong-Hui y Sang-Dal, 2010), y algunas cepas de hongos micorrízicos arbusculares (Hu-zhe *et al.*, 2005).

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) ofrecen un efecto como bioprotectores contra enfermedades de plantas (Harrier y Watson, 2004) mediante la mejora en el estado nutricional, lo que permite a la planta tener mayor tolerancia a diferentes factores de estrés biótico y abiótico. Además, estos hongos son capaces de competir con fitopatógenos por espacio y nutrientes dentro de la raíz y la micorrizósfera (Trotta *et al.*, 1996). También, la micorrización puede cambiar los patrones de exudación de las raíces permitiendo el establecimiento de otros microorganismos antagonistas a fitopatógenos como es el caso de bacterias promotoras del crecimiento vegetal. De este modo se genera una barrera de bioprotección para la planta, además la red de hifas extrarradicales de los HMA sirven como una compensación estructural funcional en raíces de plantas enfermas, reduciendo de este modo la severidad de la enfermedad (Azcón-Aguilar y Barea, 1996). Los HMA también pueden inducir resistencia sistémica (RSI) en las plantas al encender su sistema de alerta al momento

to non-mycorrhizal plants (8.23 g and 2.83 g). The results showed that CM promoted growth and had a bioprotector effect against PC.

Keywords: *Rhizophagus intraradices*, antagonism, biological control, mycorrhizae, pepper wilt.

Introduction

Wilt caused by *Phytophthora capsici* (PC) is the main disease that attacks the cultivation of pepper (*Capsicum annuum* L.). The level of damage of this disease in Mexico is very high, performance can drop between 25 and 80% (García-Rodríguez *et al.*, 2010). To control this disease they have been developed different strategies based on the application of chemicals, which however fail to satisfactory results on the phytopathogenic addition they generate resistance (Pérez-Moreno *et al.*, 2003). In recent years there has been an increased interest in finding alternative control that are environmentally friendly and sustainable. The most common is biological control, which involves the application of natural enemies, mainly antagonistic microorganisms against plant pathogens. Among the most studied they are: *Trichoderma harzianum* (Ezziyyani *et al.*, 2004), *Bacillus subtilis* (Jong-Hui and Sang-Dal, 2010), and some strains of arbuscular mycorrhizal fungi (Hu-zhe *et al.*, 2005).

Arbuscular mycorrhizal fungi (HMA) provide an effect as bioprotectors against plant diseases (Harriers and Watson, 2004) by improving nutritional status, which allows the plant to have greater tolerance to different biotic and abiotic stress. In addition, these fungi are able to compete with pathogens for space and nutrients in the root and mycorrhizosphere (Trotta *et al.*, 1996). Also, mycorrhizae can change patterns of root exudation allowing the establishment of other plant pathogenic microorganisms antagonistic as in the case of plant growth promoting bacteria. Thus a barrier bioprotection is generated for the plant and network extrarradicales hyphae HMA serve as a functional structural compensation roots of infected plants, thereby reducing the severity of the disease (Azcon-Aguilar and Barea, 1996). HMA can also induce systemic resistance (RSI) in plants to turn your system on alert when colonize the root and activate metabolic pathways which are involved plant hormones such as jasmonic acid and ethylene leading to the synthesis of toxic substances for phytopathogenic as phytoalexins and pathogenesis-related proteins (Madriz, 2002).

de colonizar la raíz y activar rutas metabólicas donde están involucradas fitohormonas como el ácido jasmónico y el etileno que conllevan a la síntesis de sustancias tóxicas para los fitopatógenos, como fitoalexinas y proteínas relacionadas con la patogénesis (Madriz, 2002).

Pozo *et al.* (2002) demostraron que, la micorrización en plantas de tomate con *Rhizophagus intraradices* y *Glomus mosseae* redujo los síntomas de la enfermedad causada por PC mediante la inducción de resistencia local y sistémica. Aunado a la RSI, la simbiosis micorrízica estimula una respuesta sensitiva de precondicionamiento en la planta ante la presencia de un agente fitopatógeno, lo que la hace reaccionar rápidamente aumentando sus niveles de defensa y dificultando su establecimiento. Este mecanismo es conocido como potenciador o "priming" (Jung *et al.*, 2012). Hu-zhe *et al.* (2005) mostraron que la pre-inoculación de *R. intraradices* en plantas de pimiento (*Capsicum annuum*) infectadas con PC incrementó la actividad de enzimas relacionadas con la lignificación, lo que se reflejó en una reducción de la mortalidad de la raíz. Con base en lo anterior el objetivo de este trabajo fue, evaluar el efecto de diferentes consorcios de HMA en la promoción del crecimiento y bioprotección de plantas de chile serrano y poblano (*Capsicum annuum*) contra *Phytophthora capsici* en condiciones de invernadero.

Materiales y métodos

El presente trabajo se desarrolló conjuntamente entre el Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (IIAF), de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH) y, el laboratorio de Biotecnología Vegetal del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ). El experimento de invernadero, se estableció en el IIAF (19° 42' longitud norte, 1 012° 11' latitud oeste, 1 941 msnm) en el municipio de Tarímbaro, Michoacán, México entre los meses de mayo a agosto de 2014.

Material microbiológico

Cepa de *Phytophthora capsici* (PC): se empleó la cepa CH11 proporcionada por el Laboratorio de Patología Vegetal del IIAF-UMSNH. Esta cepa fue aislada de plantas enfermas por marchitez de un cultivo de chile en el estado de Michoacán, México. La capacidad infectiva de la cepa CH11 se reactivó previamente en plantas de chile serrano, colocando discos

Pozo *et al.* (2002) showed that mycorrhization in tomato plants with *Rhizophagus intraradices* AND *Glomus mosseae* reduced symptoms of the disease caused by PC inducing local and systemic resistance. In addition to the RSI, the mycorrhizal symbiosis stimulates sensory preconditioning response on the ground in the presence of a phytopathogenic agent, which reacted rapidly increasing their levels of defense and hindering its establishment. This mechanism is known as enhancer or "priming" (Jung *et al.*, 2012). Hu-zhe *et al.* (2005) showed that pre-inoculation of *R. intraradices* in pepper plants (*Capsicum annuum*) the PC infected with increased activity of enzymes related to lignification, which was reflected in a reduction in mortality of the root. Based on the above, the objective of this work was to evaluate the effect of different consortia HMA in promoting growth and biosecurity plant pepper serrano and pepper poblano (*Capsicum annuum*) against *Phytophthora capsici* under greenhouse conditions.

Materials and methods

This work was conducted jointly by the Institute of Agricultural and Forestry Research (IIAF) of the Universidad Michoacana de San Nicolas de Hidalgo (UMSNH) and the Laboratory of Plant Biotechnology Centre for Research and Assistance in Technology and Design State Jalisco (CIATEJ). The greenhouse experiment was established in the IIAF (19° 42' north, 1 012° 11' west longitude, 1 941 meters) in the municipality of Tarímbaro, Michoacan, Mexico between may and august 2014.

Microbiological material

Phytophthora capsici strain (PC): the strain CH11 provided by the Plant Pathology Laboratory of the IIAF-UMSNH was used. This strain was isolated from diseased plants wilting from a culture of pepper in the State of Michoacan, Mexico. The infectivity of the CH11 strain previously revived in plants serrano pepper, placing discs mycelium in the root system of plants causing infection and development of necrotic lesions, where he was re-isolated and purified in culture medium potato dextrose agar (PDA).

Inocula HMA: seven mycorrhizal consortia from soils with plantations of *Agave cupreata* the State of Michoacan, which were given a nomenclature according to the site which were

de micelio en el sistema radical de las plantas provocando la infección y desarrollo de lesiones necróticas, de donde se aisló y purificó en medio de cultivo agar papa dextrosa (PDA).

Inóculos de HMA: se utilizaron siete consorcios micorrízicos provenientes de suelos con plantaciones de *Agave cupreata* del Estado de Michoacán, a los cuales se les dio una nomenclatura de acuerdo al sitio del cual fueron extraídos: El Huizachal (EH), Las Campesinas (LC), Rancho Carlos Rojas (RCR), Paso Ancho (PA), El limón (EL), Cerro del Metate (CM), Barranca de las Nueces (BN). Los inóculos previamente fueron propagados durante 12 meses en macetas trampa en invernadero. Los consorcios estaban constituidos por diferentes especies de HMA, encontrándose un total de 40 especies en 13 géneros, 9 familias y 3 órdenes (Rincón-Enríquez *et al.*, 2012; Trinidad-Cruz, 2014).

Material vegetal

Varietades de chile: las variedades de chile utilizadas en este trabajo fueron: chile serrano (cultivar Tampiqueña) y chile poblano (cultivar San Luis). Las semillas se sembraron en charolas de aluminio con 100 cavidades que contenían arena de río esterilizada (120 °C durante tres h, tres días consecutivos). Las plantas se trasplantaron cuando tenían cuatro hojas verdaderas, aproximadamente a los 35 días después de la siembra.

Establecimiento del experimento

Sustrato e inoculación de HMA: el sustrato que contenían las macetas consistió de una mezcla de suelo franco-arcilloso con arena en proporción 1:1 v/v esterilizado (120 °C durante tres h tres días consecutivos). Las plantas se trasplantaron a macetas con 500 g de sustrato, en ese momento se inocularon en el sistema radical con 80 esporas de HMA contenidas en una cantidad determinada de arena como material de soporte. Para la extracción, determinación y estandarización del número de esporas de cada inóculo se utilizó la técnica de tamizado húmedo y decantación de Gerdemann y Nicholson (1963), en combinación con la técnica de flotación en azúcar en gradiente de sacarosa (Walker *et al.*, 1982). Para el conteo se utilizó un microscopio estereoscópico (VELAB).

Inoculación de PC: A los 75 días después de la inoculación con los HMA (DDI), momento en el cual las plantas presentaban una colonización micorrízica mayor al 50%, se inocularon con una suspensión de zoosporas de

used were extracted: El Huizachal (EH), Las Campesinas (LC), Rancho Carlos Rojas (RCR), Paso Ancho (PA), El limón (EL), Cerro del Metate (CM), Barranca de las Nueces (BN). The inocula previously were propagated for 12 months in pots in the greenhouse trap. Consortia were composed of different species of HMA, finding a total of 40 species in 13 genera, 9 families and 3 orders (Rincón-Enríquez *et al.*, 2012; Trinidad-Cruz, 2014).

Vegetal material

Pepper varieties: the pepper varieties used in this work were: serrano pepper (cultivar Tampiqueña) and poblano pepper (cultivar San Luis). The seeds were sown in aluminum trays with wells containing 100 sterile river sand (120 °C for three h, three consecutive days). The plants were transplanted when they were four true leaves approximately 35 days after planting.

Establishment of the experiment

HMA and inoculation of substrate: the substrate containing the pots consisted of a mixture of clay loam soil with sand in the ratio 1:1 v/v sterilized (120 °C for three hours three consecutive days). The plants were transplanted to pots with 500 g substrate, then inoculated into the root system with 80 spores HMA contained in a given amount of sand as carrier material. Technique wet sieving and decanting of Gerdemann and Nicholson (1963) was used for extraction, identification and standardization of the number of spores of each inoculum in combination with the flotation technique sugar sucrose gradient (Walker, 1997). For counting a stereomicroscope it was used (VELAB).

Inoculation of PC: at 75 days after inoculation with HMA (DDI), at which time the plants had higher mycorrhizal colonization 50%, were inoculated with a zoospore suspension of *Phytophthora capsici* adjusted to a concentration of 1×10^4 zoospores ml^{-1} (Ristaino, 1990), using 1 mL per plant 500 g^{-1} substrate (20 zoospores g^{-1} substrate).

Response variables

Growth variables: to determine the effect of mycorrhizae on growth of pepper plants at 56 DDI, plant height (AP) was measured starting from the stem base to the apex of the last sheet (ruler), stem diameter (DT) storey (digital vernier), and the number of sheets (NH). A 95 DDI was terminated

Phytophthora capsici ajustada a una concentración de 1×10^4 zoosporas mL^{-1} (Ristaino, 1990), aplicando 1 mL por planta en 500 g^{-1} de sustrato (20 zoosporas g^{-1} de sustrato).

Variables de respuesta

Variables de crecimiento: para determinar el efecto de la micorrización sobre el crecimiento de las plantas de chile a los 56 DDI, se midió la altura de planta (AP) partiendo desde la base del tallo hasta el ápice de la última hoja (regla graduada), el diámetro del tallo (DT) a ras del suelo (vernier digital), y el número de hojas (NH). A los 95 DDI se dio por terminado el experimento y se procedió a registrar la biomasa fresca total (raíz, tallo, hojas y fruto) con una balanza analítica (Mettler Toledo AT200).

Variables de micorrización: a los 56 DDI se obtuvieron muestras de sustrato y raíces de cada tratamiento, para cuantificar la producción de esporas de HMA y la colonización micorrízica de la raíz. La evaluación del número de esporas, se realizó mediante la técnica de tamizado húmedo y decantación (Gerdemann y Nicholson, 1963) en combinación con la técnica de flotación en azúcar en gradiente de sacarosa (Walker *et al.*, 1982). Para el conteo se utilizó un microscopio estereoscópico (VELAB). La colonización micorrízica se determinó mediante la técnica descrita por Phillips y Hayman (1970) utilizando azul de tripano y para determinar el porcentaje de colonización se utilizó el método descrito por McGonigle *et al.* (1990).

Severidad de la enfermedad: a los 20 días de la inoculación de PC (95 DDI), se dio por terminado el experimento y se determinó el nivel de daño en la planta mediante el registro de la sintomatología de la enfermedad de acuerdo a la escala de virulencia de la marchitez en plantas de chile descrita por Quinto-Álvarez (2014). Esta escala contempla valores de cero a seis: 0=planta sana; 1=Planta con hojas parcialmente colapsadas; 2=planta con hojas colapsadas y con algunas desprendidas, tallo ligeramente inclinado; 3=planta con hojas colapsadas y cloróticas, con algunas desprendidas tallo ligeramente inclinado; 4=plantas con hojas colapsadas, la mayor parte de ellas desprendidas, tallos desplomados y con necrosis en la base; 5=plantas con hojas totalmente colapsadas, casi todas desprendidas, tallos desplomados y con presencia de necrosis desde la base hasta la parte media del tallo; 6=plantas con hojas totalmente colapsadas, la mayor parte desprendidas, tallos desplomados y con presencia de necrosis en más de 50% del tallo.

the experiment and proceeded to record total fresh biomass (root, stem, leaves and fruit) with an analytical balance (Mettler Toledo AT200).

Micorrización variables: the 56 DDI substrate samples and roots of each treatment were obtained to quantify the production of spores of HMA and mycorrhizal root colonization. Evaluating the number of spores it was made by wet sieving technique and decanting (Gerdemann and Nicholson, 1963) in combination with sugar flotation technique sucrose gradient (Walker, 1997). For counting a stereomicroscope (VELAB) it was used. Mycorrhizal colonization was determined by the technique described by Hayman and Phillips (1970) and using trypan blue was used to determine the percentage of colonization by the method described McGonigle *et al.* (1990).

Disease severity: the 20 days after inoculation of PC (95 DDI), was terminated the experiment and the level of damage was determined on the ground by recording the symptomatology of the disease according to the scale of virulence wilt in pepper plants described by Quinto-Álvarez (2014). This scale includes six zero values: 0= healthy plant; 1= plant with leaves partially collapsed; 2= plant with leaves collapsed and some detached, slightly inclined stem; 3= plant with leaves and chlorotic collapsed, with some detached stem slightly inclined; 4= plants with leaves collapsed, most of them detached, collapsed stems and necrosis at the base; 5= plants completely collapsed leaves, almost all detached, collapsed and presence of necrosis from the base to the middle of the stalk stalks; and 6= plants completely collapsed leaves detached most part, collapsed and presence of necrosis in more than 50% of the stem stems.

Experimental design and statistical analysis

Two experiments (one for each variety of pepper) under an experimental design of randomized complete block with four replications were made. In each experiment nine treatments for seven consortia HMA native rhizosphere *Agave*, a positive control which consisted of an inoculum of commercial HMA made from *Rhizophagus intraradices* and a negative control without mycorrhizal (S/HMA) were evaluated. The experimental units (UE) consisted of a potted plant chili with their respective treatment. A data obtained from the growth variables and mycorrhizae, was applied an analysis of variance and to determine statistical differences between treatments a comparison test of Tukey

Diseño experimental y análisis estadístico

Se realizaron dos experimentos (uno por cada variedad de chile) bajo un diseño experimental de bloques completos al azar con cuatro repeticiones. En cada experimento se evaluaron nueve tratamientos correspondientes a siete consorcios de HMA nativos de rizósfera de *Agave*, un control positivo que consistió de un inóculo de HMA comercial elaborado a base de *Rhizophagus intraradices* y un control negativo sin micorrización (S/HMA). Las unidades experimentales (UE) consistieron de una maceta con una planta de chile con su respectivo tratamiento. A los datos obtenidos de las variables de crecimiento y micorrización, se les aplicó un análisis de varianza y para determinar diferencias estadísticas entre tratamientos se realizó una prueba de comparación de medias de Tukey ($p \leq 0.05$). Para la variable biomasa fresca aérea, los datos fueron transformados con la función exponencial para cumplir con la normalidad y homocedasticidad de varianzas. Para la escala de virulencia de la enfermedad, se realizó un análisis no paramétrico con la prueba de Kruskal-Wallis y un intervalo de confianza para la mediana con la prueba Dunn ($p \leq 0.05$). Se calcularon coeficientes de correlación de Pearson ($p \leq 0.05$) entre colonización micorrízica con número de esporas de HMA y biomasa fresca total con el nivel de virulencia de la enfermedad. Los análisis estadísticos se hicieron con el programa StatGraphics Centurion (Statgraphics, 2005).

Resultados y discusión

Los HMA como promotores del crecimiento vegetal en chile

El análisis de varianza mostró diferencias significativas ($p \leq 0.05$) para todas las variables de crecimiento en chile serrano (Cuadro 1). En AP ($p = 0.0206$) el inóculo CM mostró los mayores valores con 23.0 cm; en DT ($p = 0.012$) con 4.05 mm y NH ($p = 0.0003$) con 33.5 hojas. En todas éstas variables CM resultó ser estadísticamente diferente del control sin HMA donde se registraron los menores valores. Para chile poblano, no se encontraron diferencias significativas en DT ($p = 0.71$) y NH ($p = 0.63$), solo para AP, donde el inóculo LC obtuvo 18.03 cm. Estos resultados concuerdan con los reportados por Alonso-Contreras *et al.* (2013), donde distintos consorcios micorrízicos aislados de la rizósfera de manzano (*Malus domestica* B.) tuvieron un efecto positivo al promover el diámetro del tallo y área foliar en plantas de *C. annuum*.

($p \leq 0.05$) was performed. For fresh air biomass variable, data were transformed with the exponential function to meet the normality and homoscedasticity of variances. For the scale of virulence of the disease, non-parametric analysis with the Kruskal-Wallis and confidence interval for the median with the Dunn test was performed ($p \leq 0.05$). The Pearson correlation coefficients were calculated ($p \leq 0.05$) between mycorrhizal colonization number of spores of HMA and complete with the level of virulence of the disease fresh biomass. Statistical analyzes were performed with StatGraphics Centurion program (Statgraphics, 2005).

Results and discussion

The HMA as plant growth promoters in pepper

Analysis of variance showed significant differences ($p \leq 0.05$) for all variables in serrano pepper growth (Table 1). In AP ($p = 0.0206$) inoculum CM showed the highest values with 23.0 cm; DT ($p = 0.012$) with 4.05 mm and NH ($p = 0.0003$) with 33.5 leaves. In all of these variables CM proved to be statistically different from control without HMA where the lowest values were recorded. For poblano pepper, no significant differences in DT ($p = 0.71$) and NH ($p = 0.63$), only to AP, where the inoculum LC obtained 18.03 cm were found. These results agree with those reported by Alonso-Contreras *et al.* (2013), where different mycorrhizal consortia isolated from the rhizosphere of apple (*Malus domestica* B.) had a positive effect in promoting stem diameter and leaf area of *C. annuum* plants.

Diaz-Franco *et al.* (2013), in an experiment in pepper (*C. annuum*) under greenhouse conditions they found that the mycorrhizae with *Rhizophagus intraradices* promoted growth by increasing fruit weight by 30% compared to non-mycorrhizal plants. In another study, when evaluating mycorrhizal inoculants in tomato plants (*Lycopersicon esculentum* M.) a significant increase in height and dry biomass compared to non-mycorrhizal plants was reported (Fernandez *et al.*, 2006).

This reflects that the HMA is a biological resource of importance in organic-biological fertilization of plants of economic interest, which could even be an alternative to other types of management and chemical fertilization (Armenta-Bojorquez *et al.*, 2010).

Cuadro 1. Crecimiento de chile por efecto de distintos inóculos de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) bajo condiciones de invernadero a los 56 días del trasplante.**Table 1. Growth of chili effect of different inocula of arbuscular mycorrhizal fungi (HMA) under greenhouse conditions at 56 days after transplantation.**

Inóculo de HMA	AP (cm)		DT (mm)		NH	
	Serrano	Poblano	Serrano	Poblano	Serrano	Poblano
EH	12.95 b	14.45 b	2.66 b	2.83 a	16.0 b	15.66 a
LC	14.57 ab	18.09 a	2.84 ab	2.87 a	19.5 b	15.75 a
RCR	15.12 ab	11.56 b	2.70 b	2.95 a	18.5 b	16.25 a
PA	13.57 b	13.05 b	2.74 b	3.07 a	15.3 b	16.75 a
EL	15.37 ab	13.85 b	2.77 b	3.11 a	17.5 b	18.00 a
CM	23.00 a	12.30 b	4.05 a	3.17 a	33.5 a	18.25 a
BN	16.50 ab	13.01 b	2.87 ab	3.32 a	18.5 b	19.33 a
<i>R. intraradices</i>	17.75 ab	11.97 b	2.74 b	3.33 a	19.0 b	19.75 a
S/HMA	12.42 b	14.02 b	2.54 b	3.35 a	15.8 b	20.00 a

Altura de planta (AP); diámetro del tallo (DT); número de hojas (NH). El Huizachal (EH); as Campesinas (LC); Rancho Carlos Rojas (RCR); Paso Ancho (PA); El Limón (EL); Cerro del Metate (CM); Barranca de las Nueces (BN); sin HMA (S/HMA). Letras distintas en columnas indican diferencias significativas según Tukey ($p \leq 0.05$).

Díaz-Franco *et al.* (2013), en un experimento en pimiento (*C. annuum*) bajo condiciones de invernadero encontraron que la micorrización con *Rhizophagus intraradices* promovió el crecimiento al incrementar el peso de frutos en un 30% respecto a plantas no micorrizadas. En otro estudio, al evaluar inóculos micorrízicos en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* M.) se reportó un incremento significativo en altura y biomasa seca respecto a plantas no micorrizadas (Fernández *et al.*, 2006).

Lo anterior refleja que los HMA son un recurso biológico de importancia en la fertilización orgánica-biológica de plantas de interés económico, que inclusive podrían ser una alternativa a otros tipos de manejo como la fertilización química (Armenta-Bojórquez *et al.*, 2010).

Para las variables de micorrización (Cuadro 2) se encontraron diferencias estadísticas en la colonización micorrízica ($p = 0.00$) y densidad de esporas ($p = 0.00$) en ambas variedades de chile a los 56 días después de la inoculación (DDI) con los HMA. No se observó colonización micorrízica en el control negativo, los inóculos que registraron mayor micorrización de las raíces en chile serrano fueron BN y PA con 84.93% y 83.43%, *Rhizophagus intraradices* mostró solo un 33.6% de colonización, el resto de inóculos fueron estadísticamente iguales, el inóculo CM que promovió mayor crecimiento en chile serrano sólo registró un 44.96% de colonización micorrízica, por lo tanto no es un inóculo muy infectivo pero sí efectivo en la promoción de crecimiento vegetal. Los conceptos de infectividad, definida como la capacidad para colonizar la raíz y efectividad, capacidad para promover el

For variables mycorrhizal (Table 2) statistical differences in mycorrhizal colonization ($p = 0.00$) and spore density ($p = 0.00$) in both varieties of chili at 56 days after inoculation (DDI) met the HMA. Not mycorrhizal colonization was observed in the negative control, the inoculates recorded higher mycorrhizal colonization of roots in serrano pepper were BN and PA with 84.93% and 83.43%, *Rhizophagus intraradices* showed only 33.6% of colonization, the rest of inoculates were statistically equal the CM inoculum promoted further growth in serrano pepper recorded only 44.96% of mycorrhizal colonization, therefore it is not a very infective inoculum but effective in promoting plant growth. The concepts of infectivity, defined as the ability to colonize the root and effectiveness, ability to promote plant growth, are not related and are known to exist HMA inocula that colonize the root lesser percentage (15-40%) and have an excellent effect on plant nutrition and growth (Tapia-Gone *et al.*, 2010).

The high percentage of mycorrhizal colonization found in this study is similar to that shown by Lucas-Santoyo (2011) who reported a 92.92% colonization up in plants guajillo (*C. annuum* L.) inoculated with mycorrhizal different consortia to 150 days after transplantation; also Tanwar *et al.* (2013) report a high percentage of colonization in the root (93.98%) in pepper, however this was even greater in the presence of *Pseudomonas fluorescens* (97.62%) which was reflected in increased growth. The high percentages of colonization found in the present study suggest that these varieties of pepper are highly micotróficas and not self-regulate the degree of colonization in their roots.

crecimiento vegetal, no están relacionados y se sabe que existen inóculos de HMA que colonizan la raíz en menor porcentaje (15-40%) y tienen un excelente efecto en la nutrición y crecimiento vegetal (Tapia-Goné *et al.*, 2010).

Regarding the density of spores of HMA analysis of variance showed statistically significant differences ($p \leq 0.05$). In serrano pepper where all treatments were inoculated HMA recorded statistically similar values

Cuadro 2. Micorrización y densidad de esporas de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en plantas de chile bajo condiciones de invernadero a los 56 días después del trasplante.

Table 2. Mycorrhization and spore density of arbuscular mycorrhizal fungi (HMA) in pepper plants under greenhouse conditions at 56 days after transplantation.

Inóculo de HMA	Colonización micorrízica (%)		Densidad de esporas de HMA (100 g de suelo seco)	
	Serrano	Poblano	Serrano	Poblano
EH	55.16 ab	43.40 b	316.50 a	406.4 a
LC	56.73 ab	93.30 a	244.10 abc	369.3 a
RCR	56.63 ab	86.83 a	168.50 c	321.2 ab
PA	83.43 a	90.06 a	312.20 a	253.8 b
EL	53.33 ab	76.63 ab	174.80 c	344.3 ab
CM	44.96 b	70.06 ab	218.45 bc	262.3 b
BN	84.93 a	66.73 ab	297.20 abc	325.5 abc
<i>R. intraradices</i>	33.60 bc	79.96 ab	215.30 bc	130.2 bc
S/HMA	00.00 c	00.00 c	000.00 d	000.0 d

El Huizachal (EH); Las Campesinas (LC); Rancho Carlos Rojas (RCR); Paso Ancho (PA); El Limón (EL); Cerro del Metate (CM); Barranca de las Nueces (BN) Sin HMA (S/HMA). Letras distintas en columnas indican diferencias significativas según Tukey ($p \leq 0.05$).

El alto porcentaje de colonización micorrízica encontrado en el presente estudio es similar a lo mostrado por Lucas-Santoyo (2011) quien reportó una colonización de hasta 92.92% en plantas de chile guajillo (*C. annuum* L.) inoculadas con diferentes consorcios micorrízicos a los 150 días después del trasplante; igualmente Tanwar *et al.* (2013) reportan un alto porcentaje de colonización en la raíz (93.98%) en pimiento, sin embargo ésta fue aún mayor en presencia de *Pseudomonas fluorescens* (97.62%) lo que se reflejó en un incremento del crecimiento. Los elevados porcentajes de colonización encontrados en el presente estudio sugieren que estas variedades de chile son altamente micotróficas y no autorregulan el grado de colonización en sus raíces.

Respecto a la densidad de esporas de HMA el análisis de varianza mostró diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0.05$). En chile serrano todos los tratamientos donde se inocularon HMA registraron valores estadísticamente similares entre ellos sin embargo fueron superiores al control negativo. En chile poblano el control con *R. intraradices* mostró la menor densidad de esporas (130 en 100 g de suelo seco), la mayor densidad de esporas se registró en el inóculo EH con 406.4 en 100 g de suelo seco que fue estadísticamente igual a LC, PA y BN. Se encontraron coeficientes de correlación de Pearson significativos entre la colonización micorrízica y el número de esporas en chile

between them however were higher than the negative control. In poblano pepper with *R. intraradices* control showed the lowest density of spores (130 in 100 g of dry soil), the highest spore density was recorded in the inoculum EH with 406.4 in 100 g of dry soil that was statistically equal to LC, PA and BN. correlation coefficients of Pearson significant between mycorrhizal colonization and number of spores in poblano ($r = 0.5469$) and serrano ($r = 0.7475$) were found, this is consistent with that reported in the literature, which indicates that high densities of spores foster greater mycorrhizal colonization (Vazquez *et al.*, 2010). However, both variables are not always necessarily dependent and depending on the species or plant variety and species of HMA used (Mendoza *et al.*, 2002).

The spore density is a variable that indicates the abundance of propagules of HMA that could compete against plant pathogens, providing for space and nutrients directly to the plant biosecurity (Azcon-Aguilar and Barea, 1996). In this case, CM inoculum was the best in reducing the severity of disease caused by PC (Figures 1 and 2) but not the densest produced spores. This might suggest that the sickest plants being in a situation of greater biotic stress, could have induced greater sporulation of the HMA. This effect is related to survival mechanisms of HMA, which may be able to increase the amount spores being threatened carbon

poblano ($r=0.5469$) y serrano ($r=0.7475$), esto concuerda con lo reportado en la literatura, donde se indica que altas densidades de esporas propician una mayor colonización micorrízica (Vázquez *et al.*, 2010). Sin embargo, ambas variables no siempre son necesariamente dependientes y están en función de la especie o variedad vegetal, así como de las especies de HMA utilizadas (Mendoza *et al.*, 2002).

La densidad de esporas es una variable que indica la abundancia de propágulos de HMA que podría competir contra fitopatógenos, por espacio y nutrientes otorgando directamente bioprotección para la planta (Azcón-Aguilar y Barea, 1996). En este caso, CM fue el mejor inóculo en la disminución de la severidad de la enfermedad causada por PC (Figuras 1 y 2) aunque no produjo la mayor densidad de esporas. Esto podría sugerir que, las plantas más enfermas al estar en una situación de mayor estrés biótico, podrían haber inducido una mayor esporulación del HMA. Este efecto está relacionado con los mecanismos de supervivencia de los HMA, los cuales pueden ser capaces de incrementar la cantidad de esporas al estar amenazados los suministros de carbono por la planta. Algunos autores sugieren que algunas especies de *Glomus* son estrategas "r"; es decir, aumentan su reproducción con un mayor número de esporas ante la presencia de un factor limitante a su supervivencia (Ijdo *et al.*, 2010).

Esto coincide con lo reportado por Schalamuk *et al.* (2014), donde en plantas de trigo (*Triticum* sp.) que se encontraban severamente afectadas por septoriosis causada por *Mycosphaerella graminicola*, la densidad de esporas fue selectivamente mayor que en plantas con menor daño de la enfermedad.

Efecto bioprotector de los HMA contra *Phytophthora capsici* L. (PC) en plantas de Chile

Después de la inoculación de PC, todas las plantas presentaron síntomas de la enfermedad, sin embargo el grado de severidad dependió del consorcio micorrízico inoculado. El análisis estadístico no paramétrico Kruskal-Wallis mostró diferencias significativas en Chile serrano (estadístico= 15.6042, valor- $p=0.0484086$) y poblano (estadístico= 15.6959, valor- $p=0.0469459$) para la escala de virulencia. En ambas variedades de Chile todos los inóculos de HMA a excepción de CM no ejercieron efecto bioprotector contra la marchitez, encontrándose las plantas con igual nivel de enfermedad que el control negativo (Figura 1).

supplies the plant. Some authors suggest that some species of *Glomus* are strategists "r"; i.e. increase reproduction with a larger number of spores in the presence of a limiting survival factor (Ijdo *et al.*, 2010).

This coincides with that reported by Schalamuk *et al.* (2014), where on wheat plants (*Triticum* sp.) that were severely affected by septoria caused by *Mycosphaerella graminicola* the spore density was higher than in plants selectively with lower disease damage.

Bioprotector effect of HMA against *Phytophthora capsici* L. (PC) in pepper plants

After inoculation of PC, all plants showed symptoms of the disease, however the degree of severity of the inoculated mycorrhizal consortium depended. The nonparametric Kruskal-Wallis statistical analysis showed significant differences in serrano pepper (statistic= 15.6042, value- $p=0.0484086$) and poblano (statistic= 15.6959, value- $p=0.0469459$) for the scale of virulence. In both varieties of pepper all inoculated HMA except bioprotector CM did not exert effect against wilting plants meeting the same level of disease than the negative control (Figure 1).

According to the scale of virulence, plants inoculated with CM they found a severity index of one, indicating partially collapsed leafy plants with erect stem (Figure 2). This shows that the mycorrhizal consortium CM is able to bioprotect chili plants against *Phytophthora capsici* given the reduction in the severity of wilting. This is consistent with that reported by Ozgonen and Erkilic (2007) who by inoculating spores of *Glomus etunicatum*, *Gl. fasciculatum* and *Gigaspora margarita* in pepper plants, found a decrease in disease caused by PC up to 91.7% under greenhouse conditions and 57.2% under field conditions. On the other hand, plants inoculated with CM had the highest fresh biomass radical, which could give them a larger area of exploration for nutrients and water, which could favor their nutritional status, development and protection against *Phytophthora capsici*. This is consistent with that reported by Gomez-Dorantes *et al.* (2008), who found a larger size of the root in tomato plants inoculated with HMA, which showed less damage by *Phytophthora capsici* compared to non-mycorrhizal plants which showed a significant loss of root biomass ($p\leq 0.05$).

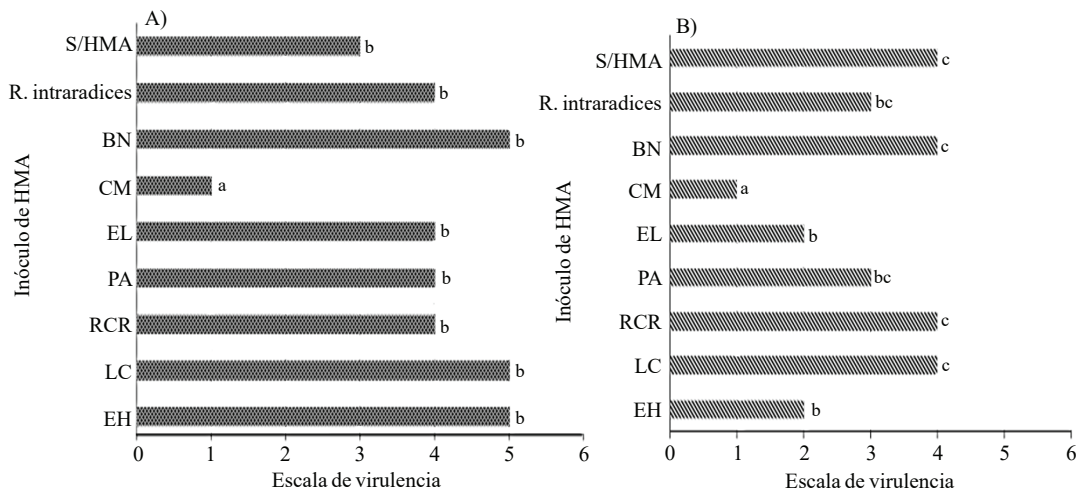


Figura 1. Severidad de la marchitez causada por PC en plantas de chile serrano (A) y poblano (B) inoculadas con HMA bajo condiciones de invernadero a los 95 días después del trasplante. El Huizachal (EH); Las Campesinas (LC); Rancho Carlos Rojas (RCR); Paso Ancho (PA); El Limón (EL); Cerro del Metate (CM); Barranca de las Nueces (BN); sin HMA (S/HMA). Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas de acuerdo a la prueba de Dunn ($p \leq 0.05$).

Figure 1. Severity of wilting caused by PC plants serrano pepper (A) and poblano (B) inoculated with HMA under greenhouse conditions at 95 days after transplantation. El Huizachal (EH); Las Campesinas (LC); Rancho Carlos Rojas (RCR); Paso Ancho (PA); El Limón (EL); Cerro del Metate (CM); Barranca de las Nueces (BN); without HMA (S/HMA). Different letters indicate statistically significant differences according to Dunn's test ($p \leq 0.05$).

De acuerdo a la escala de virulencia, las plantas inoculadas con CM se encontraron con un índice de severidad de uno, lo cual indica plantas con hojas parcialmente colapsadas con el tallo erguido (Figura 2). Esto muestra que el consorcio micorrízico CM, es capaz de bioproteger las plantas de chile contra *Phytophthora capsici* dada la reducción de la severidad de la marchitez. Esto concuerda con lo reportado por Ozgonen y Erkilic (2007) quienes al inocular esporas de *Glomus etunicatum*, *Gl. fasciculatum* y *Gigaspora margarita* en plantas de chile, encontraron una disminución de la enfermedad provocada por PC de hasta un 91.7% en condiciones de invernadero y 57.2% en condiciones de campo. Por otro lado, las plantas inoculadas con CM presentaron la mayor biomasa fresca radical, lo cual pudo conferirles una mayor área de exploración para nutrientes y agua, que pudo favorecer su estado nutricional, desarrollo y protección contra *Phytophthora capsici*. Esto concuerda con lo reportado por Gómez-Dorantes *et al.* (2008), quienes encontraron un mayor tamaño de la raíz en plantas de jitomate inoculadas con HMA, las cuales mostraron menor daño por *Phytophthora capsici* en comparación con plantas no micorrizadas las cuales mostraron una significativa pérdida de biomasa radical ($p \leq 0.05$).

La síntesis de fitoalexinas está documentada como una respuesta de la planta al ataque de fitopatógenos donde se encuentran implicados el ácido jasmónico y el etileno que

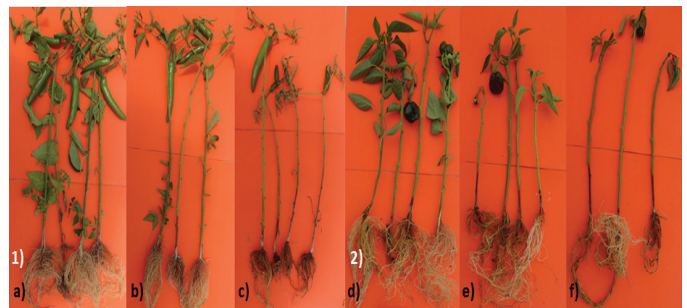


Figura 2. Aspecto general del grado de severidad de la marchitez causada por *Phytophthora capsici* en plantas de chile serrano (1) y poblano (2) a los 95 DDI bajo condiciones de invernadero. Cerro del Metate (nivel 1: a y d); sin HMA (nivel 3: b; nivel 4= f); El Huizachal (nivel 5= c); Paso Ancho (nivel 3= e).

Figure 2. Viewing the severity of wilt caused by *Phytophthora capsici* in plants serrano pepper (1) and poblano pepper (2) to 95 DDI under greenhouse conditions. Cerro del Metate (level 1: a and d); without HMA (level 3: b; Level 4 = f); The Huizachal (level 5= c); Paso Ancho (level 3= e).

The synthesis of phytoalexins is documented as a plant response to attack by pathogens which are involved jasmonic acid and ethylene that promote systemic resistance can be induced by HMA (Carreon-Abud *et al.*, 2008). Meanwhile Gómez-Dorantes *et al.* (2008) attributed the reduced

propician resistencia sistémica que puede ser inducida por HMA (Carreón-Abud *et al.*, 2008). Por su parte Gómez-Dorantes *et al.* (2008) atribuyeron la reducción de la susceptibilidad a PC en jitomate a la mejora del estado nutricional de las plantas y a la competencia por compuestos de carbono dentro de la raíz. Considerando estos resultados es posible que el efecto bioprotector encontrado en este estudio por parte de los HMA, reflejado en una menor severidad de la enfermedad, se deba entre otros aspectos a la inducción de señalización bioquímica para dar respuestas de defensa propiciadas por la actividad de fitohormonas como los ácidos salicílico y jasmónico (Kapoor, 2008).

Este efecto bioprotector ha sido reportado en plantas de tomate donde la inoculación con *G. mosseae* indujo respuesta sistémica contra *Phytophthora parasitica* en un sistema de raíz dividida, donde la resistencia fue asociada a la acumulación de compuestos fenólicos, engrosamiento de la pared celular y proteínas relacionadas con la patogénesis (PR-1) (Cordier *et al.*, 1998). La respuesta sistémica en tomate frente a *P. parasitica* también fue reportada por Pozo *et al.* (1999) donde se encontraron isoformas de enzimas hidrolíticas posiblemente relacionadas con esta respuesta. La protección contra PC mediante la síntesis de proteínas PR con actividad peroxidasa se ha reportado en plantas de chile inoculadas con *Trichoderma harzianum*, donde la colonización por el antagonista induce resistencia sistémica que puede desencadenar el mecanismo de defensa hipersensible (Ezziymani *et al.*, 2005).

Respecto a la biomasa fresca aérea y radical de plantas infectadas con PC a los 95 días después del trasplante se encontraron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre tratamientos (Cuadro 3). En chile serrano el inóculo CM promovió la mayor biomasa fresca aérea con 15.4 g siendo estadísticamente superior al control negativo (S/HMA) que registró 8.26 g. Para chile poblano la tendencia fue igual, las plantas inoculadas con CM mostraron la biomasa fresca aérea de 7.95 g y diferente estadísticamente a tratamientos sin HMA (2.83 g). En la biomasa fresca radical los diferentes consorcios de HMA incluyendo a CM, no lograron promover el crecimiento radical puesto que en ambas variedades de chile fueron estadísticamente iguales al control negativo sin HMA.

Sin embargo, el incremento de la biomasa fresca aérea por parte del consorcio CM en las plantas de chile serrano y poblano se reflejó en el menor nivel de severidad de la enfermedad que presentaron las plantas de este tratamiento (Figura 2), lo cual se corroboró al hacer un análisis de correlación entre biomasa fresca total y el nivel de severidad

susceptibilidad to PC in tomato to improve the nutritional status of plants and competition for carbon compounds in the root. Considering these results it is possible that the bioprotector effect found in this study by the HMA, reflected in a lower severity of illness, it is due among other things to the induction of biochemical signaling to give defense responses prompted by the activity of plant hormones such as salicylic and jasmonic acid (Kapoor, 2008).

This bioprotective effect has been reported in Tomato plants where inoculation with *G. mosseae* induced systemic response against *Phytophthora parasitica* in a root system divided, where resistance was associated with the accumulation of phenolic compounds, thickening of the cell wall and proteins related pathogenesis (PR-1) (Cordier *et al.*, 1998). Tomato systemic response against *P. parasitica* was also reported by Pozo *et al.* (1999) where hydrolytic enzymes isoforms possibly related to this response were found. The protection PC via protein synthesis PR peroxidase activity has been reported in pepper plants inoculated with *Trichoderma harzianum*, where colonization by the antagonist induces systemic resistance that can trigger the mechanism of hypersensitive defense (Ezziymani *et al.*, 2005).

Regarding the air fresh and radical biomass PC infected plants at 95 days after transplantation significant differences ($p \leq 0.05$) between treatments (Table 3) were found. In serrano pepper CM inoculum biomass promoted as fresh air with 15.4 g was statistically superior to the negative control (S/HMA) which registered 8.26 g. For poblano pepper trend was the same, the plants inoculated with CM showed the air fresh biomass of 7.95 g and statistically different treatments without HMA (2.83 g). In the radical fresh biomass HMA different consortiums including CM, they failed to promote root growth since in both varieties of pepper were statistically equal to the negative control without HMA.

However, increased air fresh biomass by the CM consortium plants serrano pepper poblano was reflected in the lowest level of severity of the disease who had plants of this treatment (Figure 2), which was corroborated by making a correlation analysis between the total fresh biomass and the level of severity of wilting in plants of both varieties where a significant negative correlation in both cases (-0.47 and -0.37) was found. Finally, it is important to study the biological effectiveness in promoting growth and biocontrol of plant pathogens by consortia of HMA isolated from soil *A. cupreata* because it allows to know

de la marchitez en las plantas de ambas variedades donde se encontró una correlación negativa significativa en ambos casos (-0.47 y -0.37). Finalmente, es importante el estudio de la efectividad biológica en la promoción del crecimiento y biocontrol de fitopatógenos por parte de consorcios de HMA aislados de suelos con *A. cupreata*, debido a que permite conocer las especies asociadas y su potencial aplicación biotecnológica en ésta y otras especies vegetales de importancia económica como el chile.

Conclusiones

La micorrización en plantas de chile serrano y poblano favoreció el incremento en el crecimiento vegetal reflejado en una mayor altura de planta, diámetro del tallo, número de hojas y biomasa fresca aérea. Además la micorrización mostró un efecto bioprotector frente a *Phytophthora capsici* al reducir la severidad de la marchitez en comparación con plantas no micorrizadas. En ambas variedades de chile, el consorcio micorrízico CM disminuyó la severidad de *Phytophthora capsici* L. causante de la marchitez al ser inoculado al momento del trasplante. Lo cual, evidencia el potencial de este consorcio en el control del fitopatógeno; sin embargo, es necesario realizar nuevos experimentos en invernadero para validar los resultados obtenidos para después poder utilizar el consorcio en condiciones de campo y validar el efecto bioprotector.

Agradecimientos

Al Fondo Mixto de Fomento Científico y Tecnológico CONACYT-Gobierno del estado de Aguascalientes por el financiamiento del proyecto "Desarrollo de una tecnología para el control biológico de la marchitez del chile por medio de actinomicetos nativos del estado de Aguascalientes" con el número de proyecto 2011-02-181930. A la Dra. Sylvia Patricia Fernández Pavia por facilitar la cepa CH11 de *Phytophthora capsici*. A la Dra. Evangelina Esmeralda Quiñones Aguilar, por haber fungido como codirectora de la tesis de Maestría del primer autor. Alfredo Reyes Tena, agradece a CONACYT por la beca para estudios de maestría.

the associated species and their potential biotechnological application in this and other plant species of economic importance such as chili.

Cuadro 3. Biomasa fresca aérea y radical en plantas de chile serrano y poblano inoculadas con diferentes hongos micorrízicos arbusculares (HMA) e infectadas con *Phytophthora capsici* a los 95 días después del trasplante en condiciones de invernadero.

Table 3. Fresh aerial and radical biomass in plants and poblano pepper serrano inoculated with different arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and infected with *Phytophthora capsici* at 95 days after transplantation under greenhouse conditions.

Inóculo de HMA	Biomasa fresca aérea (g)		Biomasa fresca radical (g)	
	Serrano	Poblano	Serrano	Poblano
EH	3.80 b	5.10 abc	0.45 b	1.66 ab
LC	5.27 b	2.05 bc	0.87 ab	0.45 b
RCR	6.15 b	1.67 c	0.92 ab	1.22 ab
PA	6.85 b	3.67 abc	0.77 ab	2.15 ab
EL	5.92 b	6.95 ab	0.60 b	2.45 a
CM	15.40 a	7.95 a	1.45 a	2.82 a
BN	5.37 b	2.76 bc	0.60 b	1.90 ab
<i>R. intraradices</i>	5.25 b	2.22 b	0.67 b	1.27 ab
S/HMA	8.26 b	2.83 bc	0.90 ab	1.13 ab

El Huizachal (EH); Las Campesinas (LC); Rancho Carlos Rojas (RCR); Paso Ancho (PA); El Limón (EL); Cerro del Metate (CM); Barranca de las Nueces (BN); sin HMA (S/HMA). Letras distintas en columnas indican diferencias significativas según Tukey ($p \leq 0.05$).

Conclusions

The mycorrhization in plants and poblano pepper serrano favored the increase in plant growth reflected in increased plant height, stem diameter, number of leaves and fresh aerial biomass. Furthermore mycorrhization showed a bioprotective effect against *Phytophthora capsici* to reduce the severity of wilting compared to non-mycorrhizal plants. In both varieties of pepper, the mycorrhizal consortium CM decreased the severity of *Phytophthora capsici* L. causing wilting to be inoculated at transplanting. Which, demonstrates the potential of this consortium in controlling

Literatura citada

- Alonso-Contreras, R.; Aguilera-Gómez, L. I.; Rubí-Arriaga, M.; González-Huerta, A.; Olalde-Portugal, V. y Rivas-Manzano, I. V. 2013. Influencia de hongos micorrícicos arbusculares en el crecimiento y desarrollo de *Capsicum annuum* L. Rev. Mex. Cienc. Agríc. 4(1):77-88.
- Armenta-Bojórquez, A. D.; García-Gutiérrez, C.; Camacho-Báez, J. R.; Apodaca-Sánchez, M. A.; Montoya, L. G. y Nava-Pérez, E. 2010. Biofertilizantes en el desarrollo agrícola de México. Ra Ximhai. 6(1):51-56.
- Azcón-Aguilar, C. and Barea, J. M. 1996. Arbuscular mycorrhizas and biological control of soil-borne plant pathogens - an overview of the mechanisms involved. Mycorrhiza. 6(6):457-464.
- Carreón-Abud, Y.; Gómez-Dorantes, N. y Martínez-Trujillo, M. 2008. Las micorrizas arbusculares en la protección vegetal. Rev. Biol. 10(1):60-70.
- Cordier, C.; Pozo, M. J.; Barea, J. M.; Gianinazzi, S. and Gianinazzi-Pearson, V. 1998. Cell defense responses associated with localized and systemic resistance to *Phytophthora parasitica* induced in tomato by an arbuscular mycorrhizal fungus. Mol. Plant Microbe Interac. 11(10):1017-1028.
- Díaz-Franco, A.; Alvarado-Carrillo, M.; Ortiz-Chairez, F. y Grageda-Cabrera, O. 2013. Nutrición de la planta y calidad de fruto de pimiento asociado con micorriza arbuscular en invernadero. Rev. Mex. Cienc. Agríc. 4(2):315-321.
- Ezziyyani, M.; Pérez-Sánchez, C.; Sid-Ahmed, A.; Requena, M. A. y Candela, M. E. 2004. *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el control de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.). Rev. An. Biol. 26:35-45.
- Ezziyyani, M.; Requena, M. E. y Candela, M. E. 2005. Producción de proteínas-PR en la inducción de resistencia a *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.) tratadas con *Trichoderma harzianum*. Rev. An. Biol. 27:143-153.
- Fernández, H. E.; Acosta, R. M.; Ponce, G. F. y Manuel, P. V. 2006. Manejo biológico de *Phytophthora capsici* Leo., *Fusarium oxysporum* Schelechtend (Fr.) y *Rhizoctonia solani* Kühn en jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Rev. Mex. Fitopatol. 25(1):35-42.
- García-Rodríguez, M. A.; Chiquito-Almanza, E.; Loeza-Lara, P. D.; Godoy-Hernández, H.; Villordo-Pineda, E.; Pons-Hernández, J. L.; González-Chavira, M. M. y Anaya-López, J. L. 2010. Producción de chile ancho injertado sobre criollo Morelos 334 para el control de *Phytophthora capsici*. Rev. Agrociencia. 44(6):701-709.
- Gerdemann, J. W. and Nicholson, T. H. 1963. Spores of mycorrhizal endogene species extracted from soil by wet sieving and decanting. Trans. Br. Mycol. Soc. 46(2):235-244.
- Gómez-Dorantes, N.; Carreón-Abud, Y. y Fernández-Pavía, S. P. 2008. Reducción de la susceptibilidad a *Phytophthora capsici* Leonian causante de la pudrición de raíz en jitomate (*Solanum lycopersicum* L.). Rev. Biol. 10(1):100-108.
- Harrier, L. A. and Watson, C. A. 2004. The potential role of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi in the bioprotection of plants against soil-borne pathogens in organic and/or other sustainable farming systems. Pest. Manag. Sci. 60(2):149-57.
- plant pathogen; however, you need to conduct new greenhouse experiments to validate the results obtained after the consortium to use in field conditions and validate the bioprotector effect.

End of the English version



- Hu-zhe, Z.; Chung-lan, C.; Yu-ting, Z.; Dan, W.; Yu, J. and Youg, K. K. 2005. Active changes of lignification-related enzymes in pepper response to *Glomus intraradices* and/or *Phytophthora capsici*. J. Zhejiang Univ. Sci. 6(8):778-786.
- Ijdo, M.; Schtickzelle, N.; Cranenbrouck, S. and Declerck, S. 2010. Do arbuscular mycorrhizal fungi with contrasting life-history strategies differ in their responses to repeated defoliation? Microbiol. Ecol. 72(1):114-122.
- Jong-Hui, L. and Sang-Dal, K. 2010. Biocontrol of *Phytophthora* blight of red pepper caused by *Phytophthora capsici* using *Bacillus subtilis* AH18 and *B. licheniformis* K11 formulations. Korean Soc. Appl. Biol. Chem. 53(6):766-733.
- Jung, S. C.; Martínez-Medina, A.; López-Ráez, J. A. and Pozo, M. A. 2012. Mycorrhiza induced resistance and priming of plant defenses. J. Chem Ecol. 38(6):651-664.
- Kapoor, R. 2008. Induced resistance in mycorrhizal tomato is correlated to concentration of jasmonic acid. J. Biol. Sci. 8(3):49-56.
- Li, Z.; Long, W.; Zheng, J. and Lei, J. 2007. Isolation and identification of *Phytophthora capsici* in Guangdong province and measurement of their pathogenicity and physiological race differentiation. Front. Agric. China. 1(4):377-381.
- Lucas-Santoyo, L. G. 2011. Fertilización fosfatada en chile guajillo (*Capsicum annuum* L.) y su interacción con hongos micorrícicos arbusculares. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas. Montecillos, Estado de México, México. 155 p.
- Madriz, O. K. 2002. Mecanismos de defensa en las interacciones planta-patógeno. Rev. Manejo Integrado de Plagas. 63:22-32.
- McGonigle, T. P.; Miller, M. H.; Evans, D. G.; Fairchild, G. L. and Swan, A. 1990. A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. New Phytol. 115(3):495-501.
- Mendoza, R. E.; Goldmann, V.; Rivas, J.; Escudero, V.; Pagani, E.; Collantes, M. y Marbán, L. 2002. Poblaciones de hongos micorrícicos arbusculares en relación con las propiedades del suelo y de la planta hospedante en pastizales de Tierra del Fuego. Ecol. Austral 12(2):105-116.
- Ozgonen, H and Erkilic, A. 2007. Growth enhancement and phytophthora blight (*Phytophthora capsici* Leonian) control by arbuscular mycorrhizal fungal inoculation in pepper. Crop Prot. 26(11):1682-1688.
- Pérez-Moreno, L.; Durán-Ortiz, L. J.; Ramírez-Malagón, R.; Sánchez-Palé, J. R. y Olalde-Portugal, V. 2003. Compatibilidad fisiológica y resistencia a fungicidas de aislamientos de *Phytophthora capsici* Leo. Rev. Mex. Fitopatol. 21:19-25.
- Phillips, J. M. and Hayman, D. S. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans. Br. Mycol. Soc. 55(1):158-160.

- Pozo, J. M.; Azcón-Aguilar, C.; Dumas-Gaudot, E. and Barea, J. M. 1999. β -1, 3-Glucanase activities in tomato roots inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi and/or *Phytophthora parasitica* and their possible involvement in bioprotection. *Plant Sci.* 141(2):149-157.
- Pozo, M. J.; Cordier, C.; Dumas-Gaudot, E.; Gianinazzi, S.; Barea, J. M. and Azcón-Aguilar, C. 2002. Localized versus systemic effect of arbuscular mycorrhizal fungi on defense responses to *Phytophthora* infection in tomato plants. *J. Exp. Bot.* 53(368):525-534.
- Quinto-Álvarez, C. P. 2014. Nuevas alternativas de control biológico de *Phytophthora capsici* L. causante de la marchitez en el cultivo de chile (*Capsicum annuum* L.). Tesis de Maestría. UMSNH. México. 54 p.
- Rincón-Enríquez, G.; Quiñones-Aguilar, E. E.; Montoya-Martínez, A. C.; López-Pérez, L. y Hernández-Cuevas, L. V. 2012. Diversidad de hongos micorrízicos arbusculares de suelos de *Agave cupreata* Trel y Bergeren Michoacán. In: Blanco-Macías, F.; Bravo-Lozano, A. G.; Hernández-Martínez, J.; Lara-Herrera, A.; Magallanes-Quintanar, R.; Méndez-Gallegos, S. J. y Valdez-Cepeda, R. D. (Coords.). Tópicos edafológicos de actualidad. 1ª edición. Universidad Autónoma de Zacatecas. Zacatecas, México. 11-15 pp.
- Ristaino, J. B. 1990. Intra-specific variation among isolates of *Phytophthora capsici* from pepper and cucurbit fields in North Carolina. *J. Phytopathol.* 80(11):1253-1259.
- Schalamuk, S.; Velázquez, S.; Simón, M. R. and Cabello, M. 2014. Effect of septoria leaf blotch and its control with commercial fungicides, on arbuscular-mycorrhizal-fungal colonization, spore numbers, and morphotype diversity. *J. Plant Prot. Res.* 54(1):9-14.
- Statgraphics, 2005. StatGraphics Centurion: v. XV (user manual). StatPoint, Inc. USA. 380 p.
- Tanwar, A.; Aggarwal, A.; Kadian, N. and Gupta, A. 2013. Arbuscular mycorrhizal inoculation and super phosphate application influence plant growth and yield of *Capsicum annuum*. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 13(1):55-66
- Tapia-Goné, J. J.; Ferrera-Cerrato, R.; Varela-Fregoso, L.; Rodríguez-Ortiz, J. C.; Soria-Colunga, J. C.; Tiscareño-Iracheta, M. A.; Loredó-Osti, C.; Alcalá-Jáuregui, J. y Villar-Morales, C. 2010. Infectividad y efectividad de hongos micorrízicos arbusculares nativos de suelos salinos en el cultivo de lechuga (*Lactuca sativa*). *Rev. Mex. Micol.* 31:69-74.
- Trinidad-Cruz, J. 2014. Hongos micorrízicos arbusculares asociados a la rizósfera de *agave cupreata*: riqueza de especies, cultivo *in vitro*, promotores del crecimiento y agentes de control biológico. Tesis de maestría. Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del estado de Jalisco. Guadalajara, Jalisco. 107 p.
- Trotta, A.; Varese, G. C.; Gnani, E.; Fusconi, A.; Sampo, S. and Berta, G. 1996. Interactions between the soil-borne root pathogen *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* and the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* in tomato plants. *Plant Soil.* 185(2):199-209.
- Vázquez, B.; Rivera, R.; Fernández, K. y Rodríguez, Y. 2010. Caracterización del comportamiento micorrízico en *Brachiaria decumbens* inoculada con *Glomus hoi-like*. *Rev. Cult. Trop.* 3(31):01-10.
- Walker, C.; Mize, C. W. and McNabb H. S. Jr. 1982. Populations of endogonaceous fungi at two locations in central Iowa. *Can. J. Bot.* 60:2518-2529.