

## Selección de cepas de hongos micorrízicos arbusculares en dos sistemas de producción de chile\*

### Selecting strains of arbuscular mycorrhizal fungi in two production systems of chili pepper

Bety Fabiola López-Gómez<sup>1</sup>, Alejandro Alarcón<sup>2</sup>, Roberto Quintero-Lizaola<sup>2</sup> y Alfredo Lara-Herrera<sup>1§</sup>

<sup>1</sup>Universidad Autónoma de Zacatecas- Unidad Académica de Agronomía. Carretera Zacatecas-Guadalajara, km 15.5. C. P. 98170, Zacatecas, Zacatecas. Tel: 49 21 37 26 68. Tel: 52 49 21 05 22 76. (bety\_fabiola@hotmail.com). <sup>2</sup>Colegio de Postgraduados. Campus Montecillos. C. P. 56230. Montecillos, Estado de México. Tel: 52 595 95 2 02 00. (aalarconcp@gmail.com). <sup>§</sup>Autor para correspondencia: alara204@hotmail.com.

#### Resumen

La selección de microorganismos nativos de una región para la producción de biofertilizantes, da mayores posibilidades de adaptación y multiplicación de los mismos en el suelo, debido a que, entre éstos, la diversidad funcional de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) puede depender de la procedencia de los aislamientos, más que de la especie fúngica. Con el objetivo de seleccionar cepas nativas de HMA aisladas de suelos de dos sistemas de producción de chile Mirasol: tecnificado (TEC) y tradicional (TRA); como cultivo trampa para la selección de HMA se utilizaron plántulas de chile Mirasol las cuales fueron inoculadas con suelo TEC y TRA y un testigo sin inocular, para la selección se consideraron parámetros de infectividad y efectividad. Se establecieron dentro de un invernadero 14 tratamientos con TEC y 15 con TRA, cada uno con ocho repeticiones. Durante 40 días se midió la variable, altura de planta y biomasa seca (hojas, tallo, raíz y total), también se evaluó el porcentaje de raíz colonizada a los 90 días después del trasplante. Los tratamientos TEC-11 y TRA-14 fueron los que presentaron los resultados más consistentes en los parámetros medidos, tuvieron una producción de biomasa seca total de (0.66 y 0.69 g, respectivamente), con porcentaje de colonización en la raíz de (33.89 y 36.67, respectivamente).

#### Abstract

The selection of native microorganisms of a region for biofertilizer production, gives higher possibilities of adaptation and multiplication thereof on the ground, because, among these, functional diversity of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) may depend on the origin of the isolates, rather than the fungal species. With the aim of selecting AMF native strains isolated from soil of two production systems of Mirasol chili pepper: technified (TEC) and traditional (TRA); as trap crop for selecting AMF Mirasol chili pepper seedlings which were inoculated with soil and TRA and TEC and a non-inoculated control, for selecting parameters were considered infectivity and effectiveness. Stablishing in a greenhouse 14 treatments with TEC and 15 with TRA, each with eight repetitions. For 40 days, the variable plant height and dry biomass were measured (leaves, stem, root and total), the percentage of root colonized at 90 days after transplantation was also evaluated. The TEC-11 and TRA-14 were those with the treatments most consistent by measured parameters, they had a total dry biomass production of (0.66 and 0.69 g, respectively), with percentage of root colonization (and 33.89 36.67, respectively).

\* Recibido: noviembre de 2014  
Aceptado: febrero de 2015

**Palabras clave:** *Capsicum annuum* L., aislamiento, colonización de la raíz, micorriza, suelo.

**Keywords:** *Capsicum annuum* L., isolation, mycorrhiza, soil, root colonization.

## Introducción

La simbiosis micorrízica arbuscular ha demostrado el efecto benéfico de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en el mejoramiento de la nutrición, aprovechamiento de agua, crecimiento y adaptación de las plantas ante diversas condiciones de estrés provocado, tanto, por factores bióticos como abióticos (Ferrera-Cerrato y Alarcón, 2004). Por los beneficios propios de esta asociación simbiótica mutualista (hongo-planta), se han realizado investigaciones para determinar el efecto de aislamientos de HMA sobre sistemas de producción agrícola con el fin de lograr que sean sostenibles y competitivos (Serralde y Ramírez, 2004).

Sin embargo, no todas las combinaciones HMA-planta son compatibles, con algunos hongos llega a ser más benéfico para un hospedero y la adaptación entre ellos es determinada por condiciones edafoclimáticas, mostrando diferencias estructurales y funcionales entre especies e incluso entre morfotipos de las mismas especies de hongos (Castillo *et al.*, 2009). Por eso es necesario reconocer los sitios donde la inoculación con HMA es benéfica, donde el potencial del inóculo es bajo o donde los hongos son inefectivos, y producir y utilizar inóculos de los hongos más efectivos (Salas y Blanco, 2000).

Por lo cual es indispensable la selección de microorganismos nativos de la región, ya que así existen mayores posibilidades del establecimiento y multiplicación del mismo en el suelo (Armenta *et al.*, 2010); debido a que la diversidad funcional de los HMA puede depender de la procedencia de los aislamientos, más que de la especie fúngica (Brundrett *et al.*, 1996; Trejo *et al.*, 2011). Del mismo modo, morfotipos de la misma especie de HMA, colectados de diferentes sitios confieren diferente beneficio fisiológico a la misma especie de planta (Blanco y Salas, 1997).

Existen diferencias en el proceso de colonización de las distintas cepas de HMA, los cuales se evidencian en el comportamiento fúngico, agronómico y bioquímico (Rodríguez *et al.*, 2004). Por lo anterior, las micorrizas introducidas en un sistema agroecológico deben evaluarse con base en su efectividad en el cultivo deseado (Garza-Cano

## Introduction

The arbuscular mycorrhizal symbiosis has shown the beneficial effect of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on improving nutrition, water use, growth and adaptation of plants to various stress conditions caused both by biotic and abiotic (Ferrera-Cerrato and Alarcón, 2004). For the profits of mutualistic symbiotic association (fungus-plant), research has been conducted to determine the effect of isolates of AMF on agricultural production systems in order to make them sustainable and competitive (Serralde and Ramírez, 2004).

However, not all combinations are compatible with AMF-plants with some fungi becomes more beneficial to a host and adaptation between them is determined by soil and climatic conditions, showing structural and functional differences between species and even from the same species morphotypes mushroom (Castillo *et al.*, 2009). Therefore it is necessary to recognize the places where inoculation with AMF is beneficial, where the potential of the inoculum is low or where fungi are ineffective, and produce and use inocula of the most effective fungi (Salas and White, 2000).

Therefore it is essential the selection of native microorganisms in the region, as well there are higher possibilities for establishment and multiplication of it on the soil (Armenta *et al.*, 2010); because the functional diversity of AMF may depend on the origin of the isolates, rather than the fungal species (Brundrett *et al.*, 1996; Trejo *et al.*, 2011). Similarly, morphs of the same species of AMF, collected from different locations give different physiological benefit to the same species of plant (Blanco and Salas, 1997).

There are differences in the colonization of various strains of AMF, which are evident in fungal, agronomic and biochemical behaviour (Rodríguez *et al.*, 2004). Therefore, mycorrhizae introduced into an agro-ecological system should be evaluated based on their effectiveness in the desired crop (Garza-Cano *et al.*, 2005). Knowledge of the specific relationship between plants and fungi is important for the successful use of AMF under particular conditions (K Kapoor *et al.*, 2008).

*et al.*, 2005). El conocimiento de la relación específica entre plantas y hongo es importante para la utilización exitosa de HMA bajo condiciones particulares (Kapoor *et al.*, 2008).

La respuesta a la inoculación micorrízica depende de múltiples factores tales como: la dependencia micorrízica de las plantas, la concentración de P en la solución del suelo, el número de propágulos infectivos y la efectividad de los HMA para incrementar la absorción de P (Jaramillo *et al.*, 2004). Una combinación entre los parámetros de crecimiento de la planta, tales como peso aéreo y raíces con los de colonización micorrízica, resulta adecuada para identificar de manera rápida las potenciales cepas de HMA a introducir (Covacevich y Echeverría, 2010).

México es el principal país productor y exportador de chile verde a nivel mundial, y el sexto en chile seco. En el año agrícola de 2009 se cultivaron más de 144 000 ha a nivel nacional, destacando los estados de Chihuahua, Sinaloa y Zacatecas que aportaron más de la mitad del volumen de la producción total (Galindo-Reyes *et al.*, 2011). El cultivo hortícola más importante en el estado de Zacatecas, México es el de chile (*Capsicum annuum* L.). La producción de chile seco es sensible al efecto adverso del manejo agronómico como de los organismos nocivos que reducen el rendimiento y calidad de esta hortaliza (Velásquez-Valle *et al.*, 2011). Los sistemas de producción de chile se basan principalmente en alternativas químicas para el aporte de nutrimentos y manejo fitosanitario, pero sus efectos en el suelo y el ambiente son dañinos (Serna-Pérez *et al.*, 2008), por lo cual se requiere generar alternativas sustentables.

El objetivo del presente trabajo es seleccionar cepas nativas de HMA aislados de dos sistemas típicos de producción de chile Mirasol en una de las principales regiones productoras de *Capsicum annuum* L. para secado en el estado de Zacatecas, México.

## Materiales y métodos

### Características de los sistemas de producción de chile mirasol estudiados

#### Sistema de producción tecnificado

Las labores culturales que se hacen al suelo son: volteo, rastreo, nivelado, formación de camas y durante el ciclo del cultivo se dan tres escardas. Antes de formar las camas

The response to mycorrhizal inoculation depends on many factors such as mycorrhizal dependence of the plants, the concentration of P in the soil solution, the number of infective propagules and effectiveness of the AMF to increase the absorption of P (Jaramillo *et al.*, 2004). A combination of growth parameters of the plant, such as weight and aerial roots with mycorrhizal colonization, it is appropriate to identify quickly potential to introduce AMF strains (Covacevich and Echeverría, 2010).

Mexico is the largest producer and exporter worldwide of green chili pepper, and sixth in dried chili pepper. In the crop year 2009 more than 144 000 ha were cultivated nationwide, highlighting the States of Chihuahua, Sinaloa and Zacatecas that contributed more than half the volume of total production (Galindo-Reyes *et al.*, 2011). The most important in the State of Zacatecas horticultural crops, Mexico is the chili pepper (*Capsicum annuum* L.). Production of dry chili pepper is sensitive to adverse effects of agricultural practices as harmful organisms which reduce the yield and quality of this vegetable (Velásquez-Valle *et al.*, 2011). Production systems chili pepper rely mainly on chemicals to the contribution of nutrients and plant management alternatives, but its effects on the soil and the environment are harmful (Serna-Pérez *et al.*, 2008), so it is necessary to generate alternatives sustainable.

The aim of this study is to select native strains isolated from two typical AMF production systems Mirasol chili pepper in one of the main producing regions of *Capsicum annuum* L. for drying in the State of Zacatecas, Mexico.

## Materials and methods

### Features of the production systems of the studied mirasol chili pepper

#### Tech production system

Cultural practices that make the ground are turned, tracking, levelling, and formation of beds and during the crop cycle are given three weeding. Before joining the beds are incorporated into the soil 20 t ha<sup>-1</sup> of dry cattle manure to form the beds applies as background or base 150 kg ha<sup>-1</sup> of ammonium sulfate and 500 kg ha<sup>-1</sup> of diammonium phosphate. Fertigation begins in the stage production of fruits which applies 75 kg ha<sup>-1</sup> of potassium nitrate distributed for eight weeks, and during the three weeks after applying

se incorporan al suelo 20 t ha<sup>-1</sup> de estiércol seco de bovino, al formar las camas se aplica de fondo o base 150 kg ha<sup>-1</sup> de sulfato de amonio y 500 kg ha<sup>-1</sup> de fosfato diamónico. La fertirrigación inicia en la etapa de producción de frutos en la cual aplica 75 kg ha<sup>-1</sup> de nitrato de potasio distribuidos durante ocho semanas, y durante las tres semanas posteriores aplica 25 kg ha<sup>-1</sup> de sulfato de potasio. Durante el ciclo del cultivo hace cuatro aplicaciones foliares con un fertilizante que aporta micronutrientes como: Fe, Mn, Zn, B, Cu y Mo, en mg L<sup>-1</sup>: 1.5, 0.8, 0.3, 0.4, 0.06 y 0.06, respectivamente, la primera aplicación foliar a los 60 días después del trasplante, el resto de las aplicaciones cada 15 días.

A los tres meses de establecer el cultivo aplican 2 kg ha<sup>-1</sup> de un fungicida para combatir problemas como los ocasionados por el hongo *Phytophthora capsici*. A la cintilla de riego se le dan lavados con 6 L ha<sup>-1</sup> de ácido fosfórico para evitar obturación de emisores. Los riegos se dan cada ocho días, al inicio del ciclo los riegos son de una lámina de 11.2 mm, al inicio de floración son de 16.8 mm, en la fructificación son de 22.4 a 33.6 mm; con una lámina acumulada de 400 a 500 mm. El arreglo topológico es en camas con dos hileras de plantas y una cintilla de riego al centro de la cama; la distancia entre hileras y plantas es de 45 y 35 cm, respectivamente, con aproximadamente 35 000 plantas ha<sup>-1</sup>. El cultivo de chile es rotado un año con maíz, luego con frijol. En este sistema de producción se obtiene un rendimiento aproximado de 3.3 t ha<sup>-1</sup>.

### Sistema de producción tradicional

Las labores culturales que el productor solo hace, el surcado para aplicar el fertilizante de fondo o base, aplicando directamente al suelo 100 kg de sulfato de amonio y 100 kg de súper fosfato de calcio simple por ha, a la mitad del ciclo del cultivo durante el riego aplica 3 t ha<sup>-1</sup> de estiércol seco de bovino y tres bultos de 25 kg de cal agrícola. El arreglo topológico es en surcos, la distancia entre surcos es de 90 cm y entre plantas es de 35 cm, con aproximadamente 31 000 plantas ha<sup>-1</sup>. El riego es por gravedad. En el mismo suelo se establece anualmente el mismo cultivo de chile. En este sistema de producción se obtiene un rendimiento promedio aproximado de 1.2 t ha<sup>-1</sup>.

### Muestras de suelo rizosférico (inóculo)

La recolección del suelo se realizó en el mes de noviembre de 2011, en la etapa final del ciclo del cultivo. Se recolectaron al azar 15 muestras de suelo rizosférico de plantas de chile Mirasol de una parcela de 3 ha con el sistema de producción

25 kg ha<sup>-1</sup> of potassium sulfate. During the growing season for four foliar applications with a fertilizer that provides micronutrients such as Fe, Mn, Zn, B, Cu and Mo, in mg L<sup>-1</sup>: 1.5, 0.8, 0.3, 0.4, 0.06 and 0.06, respectively first leaf at 60 days after transplantation application, other applications every 15 days.

After three months of establishing the crop, 2 kg ha<sup>-1</sup> were applied with a fungicide to combat problems such as those caused by the fungus *Phytophthora capsici*. The streak is given irrigation washed with 6 L ha<sup>-1</sup> of phosphoric acid to prevent clogging of emitters. The risks are given every week, at the beginning of the cycle the risks are of a sheet of 11.2 mm at the beginning of flowering are 16.8 mm in fruiting are from 22.4 to 33.6 mm; with a cumulative depth of 400-500 mm. The topological arrangement is in bed with two rows of plants and an irrigation line in the centre of the bed; the distance between rows and plants is 45 and 35 cm, respectively, with about 35 000 plants ha<sup>-1</sup>. Chili pepper cultivation is rotated one year with corn, then with beans. In this production system an approximate yield of 3.3 t ha<sup>-1</sup> is obtained.

### Traditional production system

The cultural practices the producer make, furrowing to apply fertilizer or base line, directly applying to soil 100 kg of ammonium sulfate and 100 kg of super simple calcium phosphate has, midway during the cultivation cycle irrigation applies 3 t ha<sup>-1</sup> dry cattle manure and three bags of 25 kg of agricultural lime. The topological arrangement is in rows, row spacing is 90 cm and between plants is 35 cm, with about 31 000 plants ha<sup>-1</sup>. Watering is by gravity. On the same soil is established annually by the same crop of chili pepper. In this production system an approximate average yield of 1.2 t ha<sup>-1</sup> is obtained.

### Rhizosphere soil samples (seed)

Soil collection was conducted in November 2011, in the final stage of the crop cycle. Randomly collecting 15 samples of rhizosphere soil of Mirasol chili pepper plant a plot of 3 ha with the traditional production system and 14 soil samples tech production area to a depth of 10-20 cm. Soil samples were placed in polyethylene bags for transportation to the laboratory, where they carried out the selection of native strains of AMF, and physical characterization, soil chemistry, and the contents of spores (Table 1). The distance between a plot and another is less than 1 500 m.

tradicional y 14 muestras de suelo del área de producción tecnificada, a una profundidad de 10 a 20 cm. Las muestras de suelo se depositaron en bolsas de polietileno, para su traslado al laboratorio, en donde se llevó a cabo la selección de cepas nativas de HMA, y la caracterización física, química de los suelos, así como los contenidos de esporas (Cuadro 1). La distancia entre una parcela y otra es menor a 1 500 m.

### Experimental site

The experiment was conducted in glasshouses Postgraduate College in Agricultural Sciences, Montecillo, Texcoco, State of Mexico, with geographical coordinates 19° 30' north latitude and 98° 53' west longitude at an elevation of 2 220 m. The prevailing climate is semi-dry temperate, with

**Cuadro 1. Características físicas y químicas de los suelos de dos sistemas de producción de chile, utilizados como inóculo micorrizal y cantidad de esporas de hongos micorrízicos arbusculares, 2011.**

**Table 1. Physical and chemical characteristics of the soils of two production systems of chili pepper, used as mycorrhizal inoculum and quantity of arbuscular mycorrhizal fungi spores, 2011.**

Propiedad	Metodología	Unidades	Parcela	
			Tradicional	Tecnificada
pH	1:2 H <sub>2</sub> O		8.4	6.9
CE	1:5 H <sub>2</sub> O	dS m <sup>-1</sup>	0.06	0.05
M.O.	Walkley-Black	(%)	1.2	0.7
N	Kjedahl	(%)	0.06	0.04
P	Olsen	mg kg <sup>-1</sup>	5	60.4
K	NH <sub>4</sub> Oac 1 N pH 7	cmol kg <sup>-1</sup>	1.7	1.2
Ca	NH <sub>4</sub> Oac 1 N pH 7	cmol kg <sup>-1</sup>	10.3	3.7
Mg	NH <sub>4</sub> Oac 1 N pH 7	cmol kg <sup>-1</sup>	2.7	1.6
N-NO <sub>3</sub> +NH <sub>4</sub>	KCl 2 N	mg kg <sup>-1</sup>	33	49.3
Textura	Boyucos	-	Franco arenoso	Arenoso franco
B	Azomectine – H	mg kg <sup>-1</sup>	0.9	0.9
Fe	DTPA	mg kg <sup>-1</sup>	2	4.3
Cu	DTPA	mg kg <sup>-1</sup>	0.6	0.4
Zn	DTPA	mg kg <sup>-1</sup>	0.3	0.8
Mn	DTPA	mg kg <sup>-1</sup>	6.6	8.1
Núm. esporas	Tamizado	En 100 g	2450	847

### Sitio experimental

El experimento se llevó a cabo en invernaderos de cristal del Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas, Campus Montecillos, Montecillo, Texcoco, Estado de México, con coordenadas geográficas 19° 30' latitud norte y 98° 53' longitud oeste, a una altitud de 2 220 m. El clima que predomina es templado semi-seco, con una temperatura media anual de 15.9 °C, con heladas poco frecuentes. En el invernadero la temperatura varió entre 14 y 34 °C y la humedad relativa entre 30 y 90%.

### Material vegetal, siembra y trasplante

La semilla utilizada para la obtención de las plantas fue seleccionada de frutos de chile Mirasol nativo, del ciclo anterior que cumplen las características indicadas en la Norma NMX-FF-107/1-SCFI-2006. La semilla fue

an average annual temperature of 15.9 °C, with rare frosts. In the greenhouse the temperature varied between 14 and 34 °C and relative humidity between 30 and 90%.

### Plant material, planting and transplanting

The seed used for the production of plants was native selected Mirasol chili pepper, the previous cycle that meets the characteristics specified in the Standard NMX-FF-107/1-SCFI-2006. The seed was selected by the producer of the TEC of the plot of the previous cycle and it has been doing for about 20 years, which is adapted to the producing region, Chaparrosa community, municipality of Villa de Cos, State of Zacatecas. The trial was established on February 3, 2012, previously disinfected seed with two commercial fungicides. The transplant took place on May 15, 2012 placing 10 g of inoculum of AMF at the base of the root system of each plant chili pepper.



seleccionada por el productor del sistema TEC de la parcela del ciclo previo y lo ha venido realizando durante aproximadamente 20 años, por lo cual está adaptada a la región productora de Chile de la comunidad de Chaparrosa del municipio de Villa de Cos del estado de Zacatecas. La siembra se realizó el 03 de febrero de 2012, la semilla previamente se desinfectó con dos fungicidas comerciales. El trasplante se llevó a cabo el 15 de mayo de 2012 depositando 10 g de inóculo de HMA en la base del sistema radicular de cada planta de Chile.

### Sustrato y contenedores

Para el establecimiento del almacigo se utilizó como sustrato turba con perlita (3:1, v:v) y para el trasplante se empleó tezontle (roca volcánica roja), con granulometría de 1 mm de diámetro. El tezontle se lavó varias veces con agua corriente y fue esterilizado posteriormente con un fungicida a base de dióxido de hidrógeno al 27%. La siembra del almacigo se efectuó en charolas de poliestireno previamente desinfectadas con cloro (hipoclorito de sodio) en agua; el trasplante se llevó a cabo en vasos de unicel con capacidad de 1 litro, esterilizados con alcohol etílico puro 96° G L.

### Tratamientos y unidad experimental

Se establecieron 30 tratamientos, los cuales consistieron de las respectivas muestras de suelo tradicional (15 en TRA) y de las correspondientes al suelo tecnificado (14 en TEC); esto debido a que el suelo se consideró como inóculo, también se estableció un tratamiento testigo sin inocular; cada tratamiento contó con ocho repeticiones. La unidad experimental consistió de una planta por cada contenedor de 1 litro, lo cual dio un total de 240 plantas.

### Variables evaluadas

Altura de planta (AP), medida desde el nivel del sustrato hasta el ápice de la rama más alta. Para medir la altura se utilizó un flexómetro, el peso seco de hojas (PSH), peso seco de tallo (PST), peso seco de raíz (PSR) y el porcentaje de colonización del hongo micorrízico arbuscular (% CT) se evaluaron a los 90 días después del trasplante (DDT); este último se midió en muestras de raíces que se extrajeron y procesaron por el método de Phillips y Hayman (1970), que consiste en la coloración de raíces y su observación en el microscopio.

### Substrate and containers

To establish the seedbed was used as substrate peat with perlite (3:1, v:v) and for transplantation tezontle was used, with particle size of 1 mm in diameter. Tezontle washed several times with tap water and was subsequently sterilized with fungicide hydrogen dioxide 27%. Seedbed planting was performed in polystyrene trays previously disinfected with bleach (sodium hypochlorite) in water; the transplant was carried out in styrofoam cups with a capacity of 1 liter, sterilized with pure ethyl alcohol 96 °G L.

### Treatments and experimental unit

30 treatments were applied, which consisted of the respective samples of traditional soil (TRA 15) and corresponding to soil tech (TEC 14); this because the soil was considered as inoculum, also a control treatment without inoculation was established; each treatment had eight repetitions. The experimental unit consisted of one plant per 1 liter container, which gave a total of 240 plants.

### Variables evaluated

Plant height (AP), measured from the level of the substrate to the apex of the highest branch. For measuring the height one tape measure is used, the dry weight of leaves (PSH), stem dry weight (PST), root dry weight (PSR) and the percentage of colonization of arbuscular mycorrhizal fungi (% CT) were evaluated at 90 days after transplantation (DDT); the latter was measured in samples of roots were extracted and processed by the method of Hayman and Phillips (1970), consisting in the colouring of roots and microscopic observation.

### Staining of roots and determining the percentage of colonization

For the evaluation of the colonization, chili pepper roots were stained following the method of Phillips and Hayman (1970), modified by Sieverding (1983). Which consists of a) clearing; b) money; c) acidification; d) staining; and e) bleaching.

### Experimental design and statistical analysis

Was used for the distribution of 30 treatments studied an experimental design totally at random, and each of the 30 treatments studied had eight repetitions. Each evaluated

## Tinción de raíces y determinación del porcentaje de colonización

Para la evaluación de la colonización endomicorrízica, las raíces de chile fueron teñidas siguiendo el método de Phillips y Hayman (1970), modificado por Sieverding (1983). El cual consiste en a) clareo; b) blanqueo; c) acidificación; d) tinción; y e) decoloración.

## Diseño experimental y análisis estadístico

Para la distribución de los 30 tratamientos estudiados se utilizó un diseño experimental completamente al azar, y cada uno de los 30 tratamientos estudiados tuvo ocho repeticiones. Cada variable evaluada fue analizada mediante un análisis de varianza y la prueba de comparación de medias se realizó con la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ). Los análisis estadísticos se llevaron a cabo con el Sistema de Análisis Estadístico (SAS Institute, 2002-2003). Para el análisis del porcentaje de colonización se transformaron los datos que se obtuvieron con la fórmula del arco seno (Infante y Zarate, 1990).

## Resultados y discusión

### Altura de planta (AP)

Al momento del trasplante la AP fue de 22 cm. De los 10 a los 20 días después del trasplante (DDT) las plantas tuvieron el mayor incremento en altura, a partir de los 30 DDT el aumento en AP fue mínimo. Con la fuente de inóculo del sistema de producción tecnificado (TEC), el testigo alcanzó una altura promedio de 22 cm, mientras que entre tratamientos se tuvieron plantas con 21 cm la más pequeña y 26 cm la más grande. En el sistema de producción tradicional (TRA) los resultados de la AP fueron muy similares ya que el testigo promedió 23 cm y en los tratamientos estuvo entre 23 cm la más pequeña y la más grande con 25 cm. Yildiz (2010) reportó que no se presentaron efectos significativos en el incremento de la AP de chile por la inoculación con una cepa nativa de HMA (13.8 cm) y otra comercial (14.7 cm) presentando estas plantas crecimiento similar entre ambas y con respecto al control (13.2 cm); contrario a lo reportado en la presente investigación. Resultados en la misma directriz que los presentes fueron obtenidos por Castillo *et al.* (2009) quienes al probar HMA nativos y comerciales en plantas de chile, derivaron en incrementos de AP siendo mayor la de los tratamientos con inóculo nativo, seguidos del inóculo comercial y al final el control sin inocular.

variable was analysed using analysis of variance and means comparison test was performed with the Tukey test ( $p \leq 0.05$ ). Statistical analyses were performed using the Statistical Analysis System (SAS Institute, 2002-2003). For analysis of the percentage of colonization data were obtained with the formula arcsin (Infante and Zarate, 1990) were transformed.

## Results and discussion

### Plant height (AP)

Transplant when the AP was 22 cm. 10 to 20 days after transplantation (DDT) plants had the highest increase in height from 30 increased AP DDT was minimal. With the inoculum source system tech production (TEC), the witness reached an average height of 22 cm, while among treatments plants were taken with the smallest 21 cm and 26 cm the largest. In the traditional production system (TRA) AP results were quite similar and that the witness averaged 23 cm and treatments was 23 cm between the smallest and largest with 25 cm. Yildiz (2010) reported no significant effects were seen in the increase in AP chili pepper by inoculation with a native strain of AMF (13.8 cm) and a commercial (14.7 cm) showing these plants similar growth between them and with respect to Control (13.2 cm); contrary to what was reported in the current investigation. Results in the same guideline that these were obtained by Castillo *et al.* (2009), who when testing native and commercial AMF pepper plants, resulted in increases in AP being higher treatments with native seed, followed by commercial seed and ultimately the control without inoculation.

### Dry weight of leaf, stem, root and total dry weight

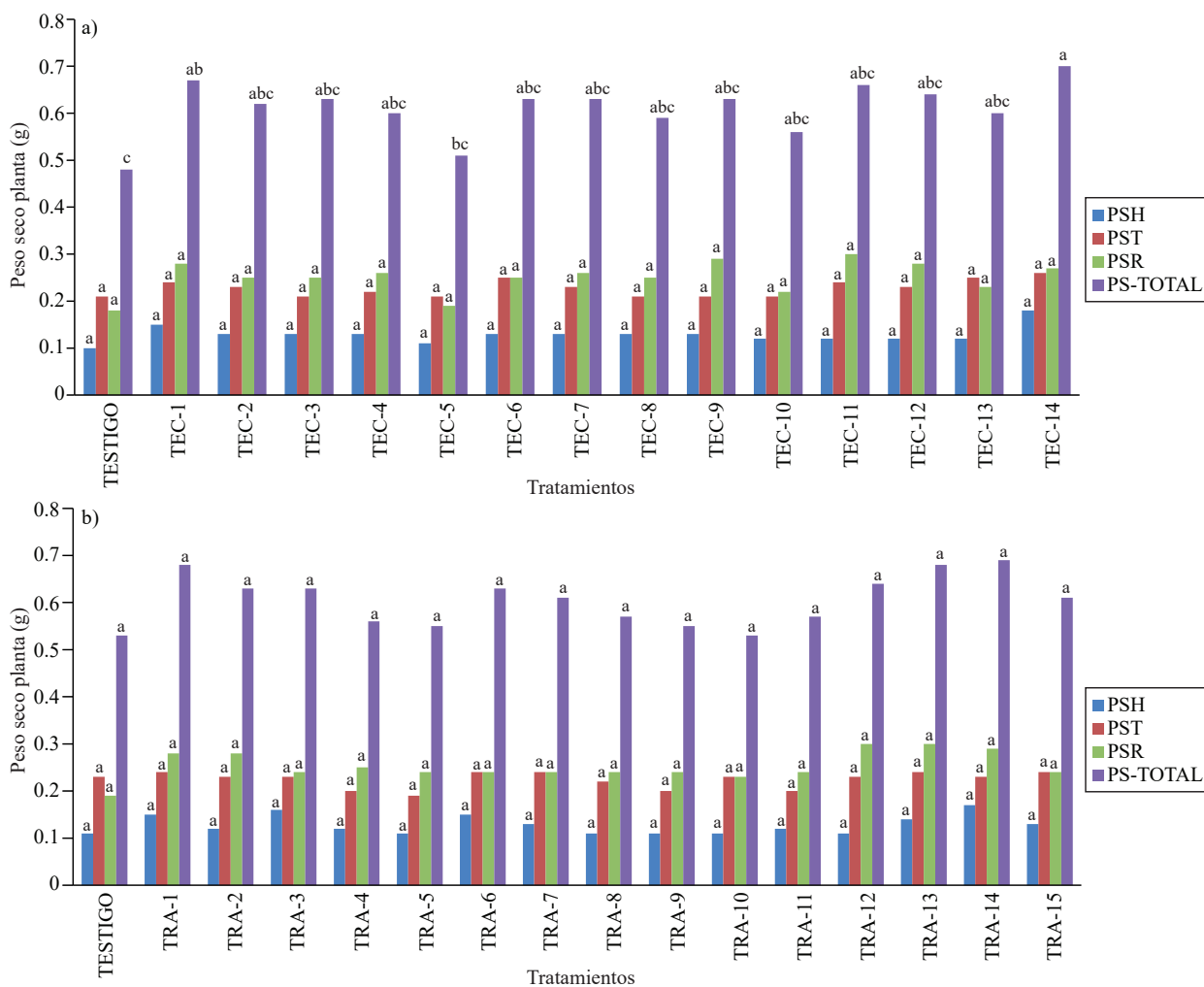
At the beginning of the experiment the dry weight of leaf, stem and root were 0.13, 0.26 and 0.12 g, respectively. Pepper plants with inoculum ECT treatments were not significantly different in the PSH, PST and PSR; but in the production of dry matter was itself significant effects were compared with the control 0.48 g, and between TEC-5 and TEC-14 treatments, with 0.51 to 0.70 g (Figure 1a). In plants inoculated with the inoculum TRA any variable dry weight showed significant differences (Figure 1b).

The root dry weight had no significant effect, however, an interesting trend of TEC-11, TRA-12, TRA-13 and TRA-14, treatments were observed as the dry weight of root mean

**Peso seco de hoja, tallo, raíz y peso seco total**

Al inicio del experimento el peso seco de hoja, tallo y raíz fueron: 0.13, 0.26 y 0.12 g, respectivamente. Las plantas de chile con los tratamientos del inóculo TEC no presentaron diferencias significativas en el PSH, PST y PSR; pero en la producción de materia seca total sí se presentaron efectos significativos con respecto al testigo 0.48 g, y entre los tratamientos TEC-5 y TEC-14, con 0.51-0.70 g (Figura 1a). En las plantas inoculadas con el inóculo TRA ninguna de las variables de peso seco presentaron diferencias significativas (Figura 1b).

treatments 90 DDT was 0.25 g for TRA as inoculum for the TEC, in the control treatment was 0.18 g, but the treatments mentioned was 0.29 g (Figure 1a, 1b). TEC seed treatments that had a dry weight of higher than 0.66 g plant were 14, 1 and 11; TRA in the inoculum treatments 1, 13 and 14 had a higher weight to 0.68 g. Mena-Violante *et al.* (2006), found no effect by inoculation with AMF on the dry weight of plant root width pepper (*Capsicum annuum* L.); however, Ortas *et al.* (2011), reported that, the inoculation with different AMF increased the PSR and shoot dry weight. PSR increased, shoot and total dry weight is also reported by Sensoy *et al.* (2007) using two strains of AMF in eight genotypes of chili peppers.



**Figura 1. Peso seco de hoja, tallo, raíz y biomasa total de plantas de chile Mirasol, por efecto del inóculo proveniente de suelo de los sistemas de producción: (a) tecnificado; y (b) tradicional y un testigo sin inocular, evaluados a los 90 DDT.**  
**Figure 1. Dry weight of leaf, stem, root and total biomass of Mirasol pepper plants, the effect of soil inoculum from production systems: (a) tech; and (b) traditional and non-inoculated control, evaluated at 90 DDT.**

El peso seco de raíz no tuvo efecto significativo, sin embargo, se observó una tendencia interesante de los tratamientos TEC-11, TRA-12, TRA-13 y TRA-14, ya que el peso seco

Yildiz (2010), reported similar results in terms of dry weight using pepper plants native and commercial strains of AMF, 2.0 and 1.9 g, respectively, as uninoculated control treatment,



de raíz del promedio de los tratamientos a los 90 DDT fue de 0.25 g para el inóculo TRA como para el TEC, en el tratamiento testigo fue de 0.18 g, pero en los tratamientos mencionados fue de 0.29 g (Figura 1a, 1b). Los tratamientos del inóculo TEC que tuvieron un peso seco de planta superior a 0.66 g fueron 14, 1 y 11; en el inóculo TRA los tratamientos 1, 13 y 14 tuvieron un peso mayor a 0.68 g. Mena-Violante *et al.* (2006) no encontraron efecto por la inoculación con HMA en el peso seco de raíz de plantas de chile ancho (*Capsicum annuum* L.), pero Ortas *et al.* (2011) reportan que la inoculación con diferentes HMA incrementaron el PSR así como el peso seco de brotes. El aumento de PSR, de brotes, así como del peso seco total es reportada también por Sensoy *et al.* (2007) al utilizar dos cepas de HMA en ocho genotipos de chiles.

Yildiz (2010) reporta resultados similares en cuanto a peso seco de plantas de chile al utilizar cepas nativas y comerciales de HMA, 2.0 y 1.9 g, respectivamente, al igual que el tratamiento control sin inocular, con 1.9 g. Contrapuesto a estos resultados, Castillo *et al.* (2009) encontraron que al infectar plantas de chile con HMA comerciales incrementó el peso 60%, mientras que las plantas con el inóculo micorrízico nativo aumentaron 116% en comparación con el control sin micorriza. Considerando los resultados reportados en Chile y los de esta investigación, se tiene que los efectos de los HMA en plantas de Chile son atribuidos tanto a la procedencia de la fuente de inóculo como al material vegetal utilizado.

### Colonización de raíz por HMA

La infectividad es definida por Yildiz (2010) como la capacidad de los hongos formadores de HMA para penetrar y difundirse en la raíz. La evaluación del porcentaje de infección en las raíces de las plantas de Chile se hizo a los 90 días después de haber sido trasplantadas e inoculadas, tanto el inóculo del sistema de producción tecnificado como del tradicional, presentaron colonización de los HMA (Figura 2). Todos los tratamientos presentaron un porcentaje de colonización variado, esto permite inferir que ambos inóculos contaban con propágulos micorrízicos infectivos ya que no hubo tratamiento alguno sin colonizar.

Estadísticamente no hubo diferencias con la fuente de inóculo TEC entre tratamientos, sólo con respecto al tratamiento testigo sin inocular. Con el inóculo TRA se presentaron tratamientos que tuvieron efectos diferentes estadísticamente y con respecto al testigo aunque éste no haya presentado colonización. La colonización promedio de las raíces osciló entre 23.5 y 40.4% para el inóculo TEC,

with 1.9 g. Opposed to these results, Castillo *et al.* (2009), found that, by infecting pepper plants AMF commercial weight increased 60%, while plants with native mycorrhizal inoculum increased 116% compared to the control without mycorrhiza. Considering the results reported in chili pepper and, this research has the effects of AMF in pepper plants are attributed to both the source of the inoculum source and the plant material used.

### Root colonization by AMF

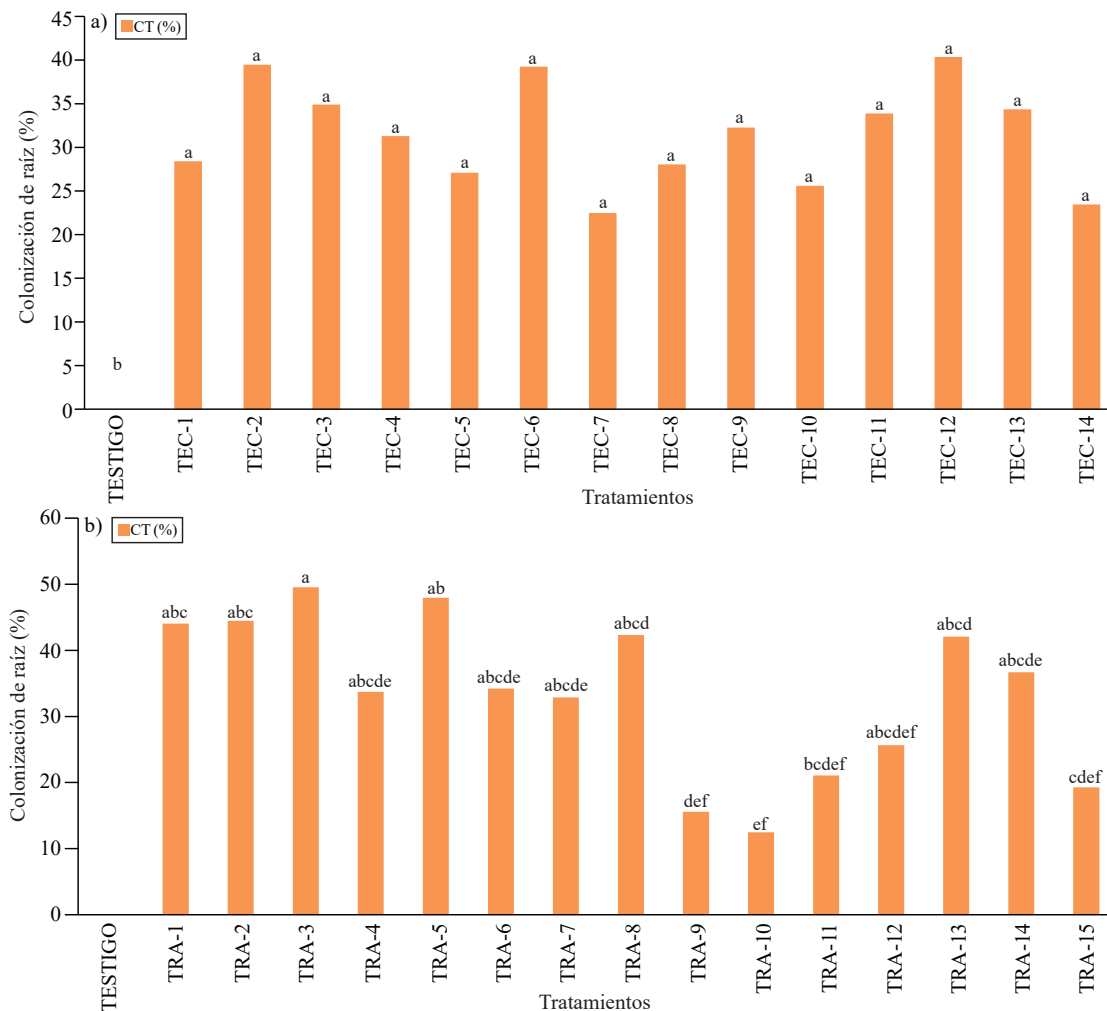
Infectivity is defined by Yildiz (2010) as the ability to AMF forming fungi to penetrate and diffuse into the root. Evaluating the level of disease in the roots of pepper plants it was made 90 days after being transplanted and inoculated both the inoculum of the production system as the traditional tech presented colonization of AMF (Figure 2). All treatments showed a percentage of colonization varied, it can be inferred that both mycorrhizal inoculants had infective propagules because there was no treatment unsettled.

Statistically, there was no difference with the inoculum source TEC between treatments, only with respect to the control treatment without inoculation. With the inoculum TRA treatments were statistically different effects and compared to the control even if it has not submitted colonization occurred. The average root colonization ranged between 23.5 and 40.4% for the inoculum TEC, and TRA inoculum was between 12.5 and 49.5%. In the TEC, treatments 6, 2, 3, 13, 11 and 12 had more than 33% of colonization; TRA and treatments 3, 5, 1, 2, 8, 13 and 14 had more than 36% (Figure 2). Similar results were reported by Cardona *et al.* (2008), for different species of the genus *Capsicum* in Colombia, the average ranged between 33.6 and mycorrhization 41.3%.

Sensoy *et al.* (2007), inoculated eight genotypes of chili pepper peppers mainly with two strains of AMF, colonization intensity varied between combinations of AMF and chili pepper genotypes (17-71%); about, Orta *et al.* (2011) also found greenhouse conditions colonization levels between 21 and 66% in inoculated plants and control plants without inoculation between 0 and 14%, which corresponds with the results of the present investigation. In reach to all of the above, Yildiz (2010) obtained that by using native strains of AMF in vegetables cucumber, tomato and chili pepper occurs a higher percentage of colonization 71, 72 and 61%, respectively, when using commercial strains AMF 47, 39 and 36%.

y con el inóculo TRA fue entre 12.5 y 49.5%. En el sistema TEC, los tratamientos 6, 2, 3, 13, 11 y 12 presentaron más de 33% de colonización; y en TRA los tratamientos 3, 5, 1, 2, 8, 13 y 14 tuvieron más de 36% (Figura 2). Resultados semejantes fueron reportados por Cardona *et al.* (2008) para diferentes especies del genero *Capsicum* en Colombia, la micorrización media osciló entre 33.6 y 41.3%.

Rubio *et al.* (1997), also reported a high dependence from chili pepper peppers to mycorrhizal colonization and was with native AMF with the best colonization of roots so they recommend using these types of fungi had; in addition, it is reported that about chili pepper plants colonization is not correlated with the development (Castillo *et al.*, 2009).



**Figura 2. Porcentaje de colonización total de raíces de plantas de chile Mirasol por el efecto del inóculo de HMA proveniente de suelo de los sistemas de producción (a) tecnificado; y (b) tradicional y un testigo sin inocular, evaluadas a los 90 DDT.**  
**Figure 2. Percentage of total colonization of plant roots of Mirasol chili pepper by the effect of AMF inoculum from soil production systems (a) modernized; and (b) traditional and non-inoculated control, assessed at 90 DDT.**

Sensoy *et al.* (2007) inocularon ocho genotipos de chile, principalmente pimientos, con dos cepas de HMA, la intensidad de la colonización varió entre las combinaciones de HMA y los genotipos de chile (17-71 %); al respecto, Ortas *et al.* (2011) también en condiciones de invernadero encontraron niveles de colonización entre 21 y 66% en plantas inoculadas y en las plantas control sin inocular entre 0 y 14%, lo cual corresponde con los resultados de la

The treatments that showed better results and consistency in the dry matter produced and the root colonization with AMF, were, in the inoculum TEC treatment 11 and the TRA 14 Treatment with 0.66 and 0.69 g dry matter, and the percentage of root colonization was 33.89 and 36.67 for the respective treatments. Therefore, the inoculum of the above treatments are those with more favourable to be taken into account in future work as more effective strains conditions.

presente investigación. En alcance a todo lo anteriormente mencionado, Yildiz (2010) obtuvo que al utilizar cepas nativas de HMA en las hortalizas de pepino, tomate y chile ocurre un mayor porcentaje de colonización 71, 72 y 61%, respectivamente, que al emplear cepas comerciales de HMA 47, 39 y 36%. Rubio *et al.* (1997) también reportan una gran dependencia del cultivo de chile a la micorrización y fue con HMA nativos con los que se tuvo la mejor colonización de raíz por lo que recomiendan utilizar estos tipos de hongos; además, se reporta que con respecto a las plantas de chile la colonización no está correlacionada con el desarrollo (Castillo *et al.*, 2009).

Los tratamientos que presentaron mejores resultados y consistencia en la materia seca producida y en la colonización de las raíces con HMA, fueron, en el inóculo TEC el tratamiento 11, y en el TRA el Tratamiento 14, con 0.66 y 0.69 g de materia seca, y el porcentaje de colonización de la raíz fue de 33.89 y 36.67, para los tratamientos respectivos. Por lo cual, los inóculos de los tratamientos mencionados son los que presentan condiciones más favorables para ser tomados en cuenta en trabajos futuros como cepas más efectivas.

## Conclusiones

Con las dos fuentes de inóculo, tecnificado (TEC) y tradicional (TRA) en las plantas de chile Mirasol, fue posible seleccionar el tratamiento que produjo el efecto más consistente en cuanto a las variables de crecimiento. Aunque la mayoría de los tratamientos no presentaron diferencias significativas, la información generada es la base para determinar qué inóculo micorrízico contó con cualidades para mejorar el crecimiento de las plantas de chile.

Los tratamientos más consistentes fueron el TEC-11 y TRA-14 ya que presentaron los mejores resultados producidos por el efecto de los inóculos micorrízicos arbusculares.

Las fuentes de inóculo TEC-11 y TRA14 son materiales biológicos de HMA que pueden ser utilizados para seguir haciendo trabajos de investigación relacionados con el mejoramiento del desarrollo del cultivo de chile Mirasol.

## Conclusions

With the two sources of inoculum, tech (TEC) and traditional (TRA) in Mirasol chili pepper plants, it was possible to choose the treatment that produced the most consistent in terms of the growth variables effect. Although most of the treatments did not differ significantly, the information generated is the basis for determining which mycorrhizal inoculum had qualities to enhance the growth of pepper plants.

The most consistent treatments were the TEC-11 and TRA-14, since they presented the best results produced by the effect of arbuscular mycorrhizal inoculants.

Inoculum sources TRA14 and TEC-11 are biological materials of MFA that can be used to continue doing research work related to the improvement of crop development of Mirasol chili peppers.

*End of the English version*



## Literatura citada

- Armenta, B. A. D.; García, G. C.; Camacho, B. J. R.; Apodaca, S. M. A.; Montoya, L. G. y Nava P. E. 2010. Biofertilizantes en el desarrollo agrícola de México. Ra Ximhai. Universidad Autónoma Indígena de México 6:51-56.
- Blanco, A. F. y Salas, A. E. 1997. Micorrizas en la agricultura: contexto mundial e investigación realizada en Costa Rica. Agron. Costarricense 21:55-67.
- Brundrett, M. C., Bougher, B.; Dell, N.; Grave and Malajczuk, N. 1996. Working with mycorrhizas in forestry and agriculture. Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR). (Ed.) Lynch, P. 364 p.
- Cardona, G.; Peña-Venegas C. P. y Arcos, A. 2008. Ocurrencia de hongos formadores de micorriza arbuscular asociados a ají (*Capsicum* sp.) en la Amazonia Colombiana. Agr. Colombiana 26:459-470.
- Castillo, R. C.; Sotomayor, S. L.; Ortiz, O. C.; Leonelli, G. C.; Borie B. F. and Rubio, H. R. 2009. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on an ecological crop of chili peppers (*Capsicum annum* L.). Chilean J. Agric. Res. 69:79-87.
- Covacevich, F. y Echeverría, H. E. 2010. Indicadores para seleccionar inóculos de hongos micorrízicos arbusculares eficientes en suelos moderadamente ácidos. CI. Suelo Argentina 28:9-12.
- Ferrera-Cerrato, R. y A. Alarcón. 2004. Biotecnología de los hongos micorrízicos arbusculares. In: Memoria Simposio de biofertilización. Río Bravo, Tampico. 25 de noviembre. 1-9. pp.

- Galindo-Reyes, M. A.; Garibaldi, M. F. y Perdomo, R. F. 2011. La poda de raíz mejora la calidad del chile tipo "Mirasol" criollo. *In: Octava Convención Mundial del Chile*. León, Guanajuato, México, 26, 27 y 28 de Mayo. Consejo Nacional de Productores de Chile. 121-127 pp.
- Garza-Cano, I.; Pecina-Quintero, V.; Díaz-Franco, A.; Williams-Alanís H. y Ramírez-De León, J. A. 2005. Sorgo cultivado con biofertilizantes, fitohormonas y fósforo inorgánico. *Terra Latinoamericana* 23:581-586.
- Infante, G. S. y Zárate, de L. G. P. 1996. Métodos estadísticos: un enfoque interdisciplinario. 2ª Reimpresión. Ed. Trillas. México. 643 p.
- Jaramillo, P. S. P.; Silva, B. J. M. y Osorio, V. N. W. 2004. Potencial simbiótico y efectividad de hongos micorrizo arbusculares de tres suelos sometidos a diferentes usos. *Rev. Facultad Nacional de Agronomía, Medellín* 57:1.
- Kapoor, R.; Sharma, D. and Bhatnagar, A. K. 2008. Arbuscular mycorrhizae in micropropagation systems and their potential applications. *Sci. Hortic.* 116:227-239.
- Mena-Violante, H. G., Ocampo-Jiménez, L. O.; Martínez-Soto, D. G.; González-Castañeda, J.; Davies, F. T. and Olalde-Portugal, V. 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi enhance fruit growth and quality of chile ancho (*Capsicum annum* L. cv San Luis) plants exposed to drought. *Mycorrhiza* 16:261-267.
- Ortas, I.; Sari, N.; Akpınar, Ç. and Yetisir, H. 2011. Screening mycorrhiza species for plant growth, P and Zn uptake in pepper seedling grown under greenhouse conditions. *Sci. Hortic.* 128:92-98.
- Phillips, J. M. and Hayman, D. S. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment to infection. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 55:158-161.
- Rodríguez, Y. Y.; de la Noval, P. B.; Fernández, M. F. y Rodríguez, H. P. 2004. Estudio comparativo del comportamiento de seis cepas de hongos micorrízicos arbusculares en su interacción con el tomate (*Lycopersicon esculentum* M. var. "Amalia"). *Ecol. Apl.* 2:162-171.
- Rubio, H. R.; Cepeda, P. M.; Borie, B. F. y Contreras, N. A. 1997. Efecto de hongos micorrizógenos arbusculares sobre el crecimiento de algunas hortalizas en almácigo y posterior trasplante. *Agríc. Téc. Chile.* 57:161-168.
- Salas, E. y Blanco, F. 2000. Selección de plantas hospederas y efecto del fósforo para la producción de inóculo de hongos formadores de micorrizas arbusculares por el método de cultivo en macetas. *Agron. Costarricense.* 24:19-28.
- Sensoy, S.; Demir, S.; Turkmen, O.; Erdinc, C. and Burak, S. O. 2007. Responses of some different pepper (*Capsicum annum* L.) genotypes to inoculation with two different arbuscular mycorrhizal fungi. *Sci. Hortic.* 113:92-95.
- Serna-Pérez, A.; Zegbe, J. A.; Mena-Covarrubias, J. y Rubio-Díaz S. 2008. Sistemas de manejo para la producción sustentable de chile seco cv. 'Mirasol'. *Rev. Fitotéc. Mex.* 31:41-44.
- Serralde, O. A. M. y Ramírez, G. M. M. 2004. Análisis de poblaciones de micorrizas en maíz (*Zea mays*) cultivado en suelos ácidos bajo diferentes tratamientos agronómicos. *Corpoica* 5:41-40.
- Sieverding, E. 1983. Manual de métodos para la investigación de la micorriza vesícula-arbuscular en el laboratorio. CIAT. Proyecto micorriza. Colombia 116 p.
- Statistical Analysis System (SAS) Institute. 2002-2003. SAS software version 9.1, SAS Institute, Vary, NC, USA.
- Trejo, D.; Ferrera-Cerrato, R.; García, R.; Varela, L.; Lara, L. y Alarcón, A. 2011. Efectividad de siete consorcios nativos de hongos micorrízicos arbusculares en plantas de café en condiciones de invernadero y campo. *Rev. Chilena de Historia Natural.* 84:23-31.
- Velásquez-Valle, R.; Reveles, T. L. R. y Mena, C. J. 2011. Incidencia de virus en parcelas comerciales de chile seco en el norte centro de México. *In: Octava Convención Mundial del Chile*. León, Guanajuato, México, 26, 27 y 28 de Mayo. Consejo Nacional de Productores de Chile. 75-81 pp.
- Yildiz, A. 2010. A native *Glomus* sp. from fields in Aydın province and effects of native and commercial mycorrhizal fungi inoculants on the growth of some vegetables. *Turk J. Biol.* 34:447-452.