

Evaluación de micorrizas vesículo arbusculares (MVA) en plántulas de chile piquín *Capsicum annuum* L. var. *aviculare* Dierb

M. Méndez Puente M.*, S. Moreno Limón†, S.M. Salcedo Martínez y D. Quistián Martínez

Universidad Autónoma de Nuevo León,
Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Biología Vegetal
Ave. Pedro de Alba s/n, Cd. Universitaria,
San Nicolás de los Garza, N.L. México. 66455.

*mariana.mendez@uanl.edu.mx

RESUMEN

El chile piquín *Capsicum annuum* L. var. *aviculare*, posee una importancia cultural y comercial a nivel nacional, sin embargo, su cosecha depende principalmente de colectas de plantas en estado silvestre; esto debido a su dificultad para la germinación por características propias de la especie. Una alternativa para solucionar este problema es la utilización de recursos bióticos que contribuyan al establecimiento eficiente de esta especie en condiciones de cultivo, por ejemplo, el uso de biofertilizantes como las Micorrizas Vesículo Arbusculares (MVA). En el presente estudio se comprobó la existencia de diversidad fúngica de MVA asociadas a la rizosfera de chile piquín de Río Tuxpan (Zacatecas), se evaluó el crecimiento y desarrollo vegetativo de las plántulas de chile piquín inoculadas con MVA en condiciones de invernadero. Los resultados demostraron que las MVA influyen positivamente en el desarrollo vegetativo en comparación con el testigo no inoculado. La especie de *Glomus intraradices* resultó ser la más eficiente en el crecimiento radicular, índice de contenido de clorofila y peso seco.

Palabras clave: Micorrizas, MVA, chile piquín.

ABSTRACT

The piquín pepper, *Capsicum annuum* L. var. *aviculare*, is of national cultural and commercial importance; however, its harvest depends mainly on wild plant

collections due to its difficulty in germination due to the species' own characteristics. An alternative to solve this problem is the use of biotic resources that contribute to the efficient establishment of this species under cultivation conditions, for example, the use of biofertilizers such as Vesiculoarbuscular mycorrhizae (VAM). In the present study, the existence of fungal diversity of VAM associated with the rhizosphere of piquín pepper from Río Tuxpan (Zacatecas) was verified. The growth and vegetative development of piquín pepper seedlings inoculated with VAM under greenhouse conditions was evaluated. The results demonstrated that VAM positively influence vegetative development compared to the non-inoculated control. The *Glomus intraradices* species turned out to be the most efficient in root growth, chlorophyll content index and dry weight.

Key words: Mycorrhizae, MVA, piquín chili.

INTRODUCCIÓN

En México como en otros países de Latinoamérica, el chile es uno de los frutos de mayor importancia cultural y comercial, de los cuales uno de los más populares es el chile piquín *Capsicum annuum* L. var. *aviculare* que ha sido consumido de manera tradicional por muchas generaciones en la pobla-

ción mexicana debido a sus características de sabor y pungencia. La comercialización del chile piquín en México, se da principalmente de colectas de plantas silvestres, lo cual genera sobreexplotación del fruto y causa daños en la fisiología de las plantas.

La dificultad para la germinación se debe, entre otros factores a la dormancia de su semilla, característica fisiológica propia de la especie. Algunos autores como Castillo *et al.* (2009), observaron que en condiciones de ensayo los hongos micorrícicos como el género *Glomus* influyen en la producción de *Capsicum annuum* L., ya que encontraron que en las plantas micorrizadas presentaron mayor vigor, superficie foliar más alta, relación brote-raíz y aceleración en la fructificación.

El uso de las MVA como biofertilizante podría ser utilizada como una herramienta potencial en la agricultura, ya que, su uso, permite incrementar desarrollo y crecimiento, tolerancia ante sequías, el establecimiento en suelos pobres en nutrientes y contribuye a la resistencia contra enfermedades fitopatógenas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Colecta, identificación y reproducción de MVA

La primera parte fue el aislamiento de las esporas de MVA, se realizó colectando dos muestras de suelo en la localidad de Río Tuxpan (Zacatecas), utilizando la técnica de Aguirre *et al.*, (2007). Posteriormente se procesaron las muestras de suelo, utilizando la técnica de decanto húmedo y tamizado propuesta por Gerdemann y Nicolson (1963). Una vez procesadas las muestras de suelo se procedió a la identificación de las esporas de las MVA utilizando las claves taxonómicas proporcionadas por el International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi (INVAM, 2016). Después de la identificación se realizaron aislamientos monospóricos mediante la técnica propuesta por Román *et al.*, (2001) y final-

mente se procedió a la reproducción de las MVA utilizando el método de macetas o plantas trampa con semillas de *Sorgum bicolor*.

Inoculación de MVA en plántulas de chile piquín y medición de Índice de Concentración de Clorofila (ICC)

Para la producción de plantas se utilizaron 100 semillas y se hizo tratamiento pregerminativo con Ácido giberélico (5000 ppm), por 24 horas. Se sembraron en charolas con un sustrato esterilizado y se colocaron en cámara bioclimática a un fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. La inoculación consistió en la elección de 24 plántulas con desarrollo uniforme, estas fueron trasplantadas en 300 gr sustrato esterilizado arena-tierra 3:1 y se añadieron 20 gramos de suelo de las macetas trampa (con 40 esporas/gramo aproximadamente), y se colocaron en una cámara bioclimática a un fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad durante siete días, para después trasladarlas a condiciones de invernadero.

Para la medición del Índice de Concentración de Clorofila (ICC), se utilizó un medidor Opti-Sciences CCM-200 plus, el cual mide la absorbancia de ambas longitudes de onda y calcula el ICC, valor que es proporcional a la cantidad de clorofila de la muestra (Ochoa, 2014), esta medición se realizó cada tercer día. La fase experimental se llevó a cabo durante 12 semanas, bajo un diseño de bloques al azar con tres repeticiones por tratamiento además de un testigo absoluto.

Evaluación de variables de crecimiento y desarrollo en plántulas de chile piquín

Para cada tratamiento se evaluó la altura, índice de contenido de clorofila (ICC) y cantidad de hojas producidas. Posterior a las 12 semanas, en el material biológico seleccionado se consideraron las siguientes

variables, la longitud de raíz (LR), peso fresco de la plántula (PFP), peso seco de la plántula (PSP), peso fresco de la raíz (PFR), peso seco de la raíz (PSR) y porcentaje de colonización micorrícica en la raíz (PCM). La longitud de raíz (raíz principal) fue medida con una regla convencional y los PFP, PFR y PCM se pesaron en balanza digital ADN HR-120. Cabe mencionar que las plantas se secaron en una estufa de convección a 70°C durante 15 minutos. El PCM se detalla en el apartado de estimación del porcentaje de colonización radical de MVA. Se realizó un ANOVA de una vía y una comparación de medias mediante la prueba de Duncan ($\alpha=0.05$) para determinar estadísticamente cuál es la MVA más eficiente, para el crecimiento y desarrollo de las plantas de chile piquín. El análisis estadístico se realizó con el software SPSS Statistics V20.0.0.

Estimación de la colonización radical, aislamiento y conteo de esporas

El procesamiento de raíz para observar las estructuras de MVA consistió en un tratamiento de clareamiento, blanqueo, acidificación y tinción de Bevege (1968), para la búsqueda y estimación del porcentaje de colonización radical de MVA se realizó la técnica de intersección de campos en placa de Phillips y Hayman (1970). Para el análisis del porcentaje de colonización se realizó mediante la técnica de González (1993).

Para obtener la estimación final del porcentaje de colonización radical de MVA se le asignó el valor de 25% a cada fragmento de raíz montada en un portaobjeto de tal manera que si todas las raíces presentaban por lo menos un arbusculo, se consideraba el 100%, esta evaluación se realizó para cada una de las repeticiones por especie.

Para el aislamiento y conteo de esporas se utilizó la técnica de decanto húmedo y tamizado propuesta

por Gerdemann y Nicolson (1963) en 200 gramos de suelo de las macetas trampa y el conteo de esporas/gramo se realizó mediante la técnica propuesta por Sieverding (1984), González (1993), Aguilera-Gómez (1997). El cálculo para conocer la cantidad de esporas/gramo se hizo dividiendo la cantidad de esporas entre los mililitros de las alícuotas donde se buscaron las esporas (10 mL), posteriormente se realizó una regla de tres simple, se multiplicó por los mililitros recuperados (40 mL) por el resultado de la operación anterior y se dividió entre 1, esto para conocer la estimación de esporas en 40 mL, este resultado se dividió entre los gramos del sustrato de muestra (200 g) y se multiplicó por 100, obteniéndose así la cantidad de esporas/gramo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización morfológica de esporas en la rizosfera de chile piquín

De acuerdo con las características morfológicas de las esporas como el color, forma, tamaño, diámetro ecuatorial, diámetro meridional, se identificaron seis morfotipos, cuyas especies corresponden a *Glomus* sp, *Glomus intraradices*, *Glomus mosseae*, *Gigaspora albida*, *Sclerocystis coremioides* y *Acaulospora* sp (Tabla 1). Estos resultados son similares a los encontrados por González (1989), quien menciona que las esporas de MVA más comunes son *Glomus* 44%, *Acaulospora* 27% y *Gigaspora* 36%.

Evaluación de MVA en plántulas de chile piquín

Altura de las plántulas (AP). Las MVA con más influencia en la altura fueron *Acaulospora* y *Sclerocystes coremioides* con 2.7 cm cada una, seguidas por *Glomus intraradices* 2.4 cm, *Gigaspora albida* 1.9 cm., *Glomus mosseae* 1 cm y *Glomus* sp. 0.8 cm, mientras que el testigo obtuvo un crecimiento de 2.2

Tabla 1. Diversidad de esporas de la rizosfera de chile piquín de la localidad Río Tuxpan (Zacatecas)

Morfotipos (aislamientos)	Especie	Color	Forma*	Diámetro Ecuatorial (µm)	Diámetro Meridional (µm)	Esporas 100/g
1	<i>Glomus intraradices</i>	Café oscuro	G-S	105.1	104.47	37.6±3.5
2	<i>Glomus</i> sp	Hialino	G-S	142.2	150.9	23.3±3.2
3	<i>Glomus mosseae</i>	Café amarillo	G-S	120.2	122.1	32.1±3.5
4	<i>Gigaspora albida</i>	Amarillo	G-S	250.4	230.8	14.5±1.9
5	<i>Sclerocystis coremioides</i>	Negro	G-S	389.4	401.3	3.7±0.8
6	<i>Acaulospora</i> sp	Naranja rojizo	G-S	450.3	436.7	4.6±1.2

*G-S corresponde a globosa a subglobosa

cm (Tabla 2).

Peso seco de raíz (PSR). Los resultados obtenidos de la biomasa de raíz no presentaron variabilidad estadística. El género *Acaulospora* obtuvo el mayor peso seco en raíz con una media de 0.074 mg, seguido de *Glomus intraradices* con 0.073 mg, mientras que el peso seco de raíz del testigo fue de 0.009 mg (Tabla 2).

Peso seco de la plántula (hojas y tallos, PSP). El mayor peso seco de la planta fueron las inoculadas con *Glomus intraradices* con una media de 0.166 mg, seguida por *Glomus mosseae* 0.106 mg, mientras que el testigo obtuvo un peso seco de 0.063 mg (Tabla 2). Las plántulas inoculadas con *Glomus intraradices* obtuvieron un peso total seco de 1.92 mg, siendo este el valor más alto comparado con el resto de los tratamientos. De acuerdo con los resultados anteriores podemos mencionar que la fisiología de las plantas de chile piquín *C. annuum* al ser una especie de tipo leñosa, tarda en manifestar los efectos de crecimiento vegetativo en un período de tres meses, tiempo en el que se llevó a cabo la fase experimental de este estudio.

Longitud final de raíz (LFR). La mayor longitud de la raíz principal se presentó en las plantas inoculadas

con *Glomus intraradices* con una media de 15.33 cm seguida por *Glomus mosseae* 10.50, mientras que en el testigo fue de 4.16 (Tabla 2).

Índice de Contenido de Clorofila (ICC). Las mediciones de ICC se llevaron a cabo por 12 semanas (Tabla 2, Figura 1). El análisis de varianza (ANOVA) mostró que existe diferencia significativa (>0.01) en el ICC en respuesta a la inoculación con las diferentes especies de MVA. Por otra parte la comparación de medias mediante Duncan demostró la formación de cuatro grupos estadísticamente diferentes, en los cuales, se evidencia que el menor ICC se presenta en el tratamiento control y por lo contrario se observa un incremento significativo en el resto de los tratamientos, siendo el más alto ICC en las plantas inoculadas con las esporas MVA de la *Glomus intraradices* (41.34), seguida de *Glomus* sp (31.97), *Sclerocystis coremioides* (29.03), *Acaulospora* (26.94), *G. mosseae* (23.42) y *Gigaspora albida* (20.30).

Conteo de esporas por gramo de sustrato (CE). Las MVA que presentaron mayor cantidad de esporas en 100 g fueron el género *Glomus*; *G. intraradices* obtuvo una media de 178.00, *G. mosseae* 118.00 y *Glomus* sp 267.33, esto concuerda con lo investigado por Cardona *et al.* (2008), quienes reportaron que las

Tabla 2. Valores promedio y desviación estándar de las variables medidas durante 12 semanas en plantas de chile piquín inoculadas con esporas de MVA

Especie	Micorrización %	CE/100g	ICC	PFR (g)	PSR (g)	LFR (cm)	PFP (g)	PSP (g)	AP (cm)		
									API	APF	APP
<i>G. intraradices</i>	37.67 ^{ab} ±12.50	178 ^{ab} ±82	41.34 ^d ±7.62	0.96 ^a ±.56	0.073 ^a ±.035	15.33 ^a ±4.04	2.09 ^b ±.67	0.166 ^a ±.015	5.3	7.8	2.4
<i>G. mosseae</i>	25.00 ^{bc} ±0.00	118 ^{ab} ±47.79	23.43 ^{bc} ±10.43	0.23 ^{bc} ±.13	0.014 ^a ±.009	10.50 ^{ab} ±6.61	1.06 ^c ±.42	0.106 ^b ±.035	4.2	5.2	1.0
<i>Acaulospora</i> sp	33.33 ^{abc} ±14.43	75.33 ^b ±39.00	27.00 ^{bc} ±4.0	0.21 ^b ±.02	0.074 ^a ±.099	7.43 ^{bc} ±2.97	1.09 ^b ±.18	0.080 ^b ±.007	6.8	9.5	2.7
<i>Sclerocystis coremioides</i>	25.00 ^{bc} ±0.00	96.67 ^b ±59.13	29.03 ^{bc} ±5.00	0.59 ^{abc} ±.35	0.068 ^a ±.048	6.16 ^{bc} ±2.02	0.40 ^c ±.39	0.005 ^d ±.009	7.2	9.8	2.7
<i>Glomus</i> sp	50.00 ^c ±0.00	267.33 ^a ±97.00	32.00 ^c ±6.35	0.70 ^{ab} ±.17	0.003 ^a ±.003	3.16 ^c ±0.28	0.39 ^c ±.27	0.026 ^{cd} ±.023	9.5	10.3	0.8
<i>Gigaspora albida</i>	37.67 ^{ab} ±12.50	56.67 ^b ±26.40	20.30 ^b ±11.11	0.06 ^c ±.04	0.007 ^a ±.005	6.33 ^b ±2.36	0.35 ^c ±.29	0.033 ^{cd} ±.014	4.5	6.4	1.9
Testigo	N/A	N/A	11.70 ^a ±5.42	0.40 ^{bc} ±.42	0.009 ^a ±.003	4.16 ^c ±1.04	0.78 ^c ±.30	0.063 ^{bc} ±.040	5.5	7.7	2.2

CE/100g: conteo de esporas por 100g, ICC: índice de contenido de clorofila, PFR: peso fresco de la raíz, PSR: peso seco de la raíz, LFR: longitud final de la raíz, PFP: peso fresco de la plántula, PSP: peso seco de la plántula, API: altura de la plántula inicial, APF: altura de la plántula final, APP: altura promedio de la plántula

especies de *Capsicum annuum*, *C. baccatum*, *C. chinense*, *C. frutescens*, y *C. pubescens* presentan gran afinidad por el género *Glomus*. Por otra parte, el género *Acaulospora* obtuvo una media de 75.33, *Gigaspora albida* con 56.67 y en el caso de *Sclerocystis coremioides* con un promedio de 96.67, además se observaron gran cantidad de esporocarpos y numerosos esclerocios.

El análisis estadístico nos permitió determinar que tres de las especies de *Glomus* (*Glomus* sp, *G. intraradices* y *G. mosseae*) son estadísticamente similares, presentando una consistencia en cuanto a la cantidad de esporas, aunque el contenido de esporas es mayor en *Glomus* sp, no existe diferencia significativa con el resto de las especies de este género; sin embargo, existe variación con el resto las especies y con *Glomus clarum*.

Estimación del porcentaje de micorrización de MVA.

La especie con mayor porcentaje de micorrización fue *Glomus* sp con una media del 50%±0.01, seguida por *G. intraradices* y *Gigaspora albida* con un 37.67% ±12.50, *Acaulospora* 33.33%±14.33, *G. mosseae* y *Sclerocystis coremioides* 25.00%±0.01. No hubo diferencias estadísticamente significativas (P<0.05) entre los tratamientos, a excepción de *G. mosseae* y *S. coremioides*.

CONCLUSIÓN

Se comprobó la existencia de diversidad fúngica de hongos MVA asociadas a la rizosfera de *Capsicum annuum* L. var. Aviculare en Río Tuxpan (Zacatecas), tres del género *Glomus* (*G. sp*, *G. intraradices* y *G. mossea*), *Acaulospora*, *Sclerocystis coremioides* y *Gigaspora albida*. Las plántulas de *Capsicum annuum* inoculadas con MVA, en condiciones de invernadero

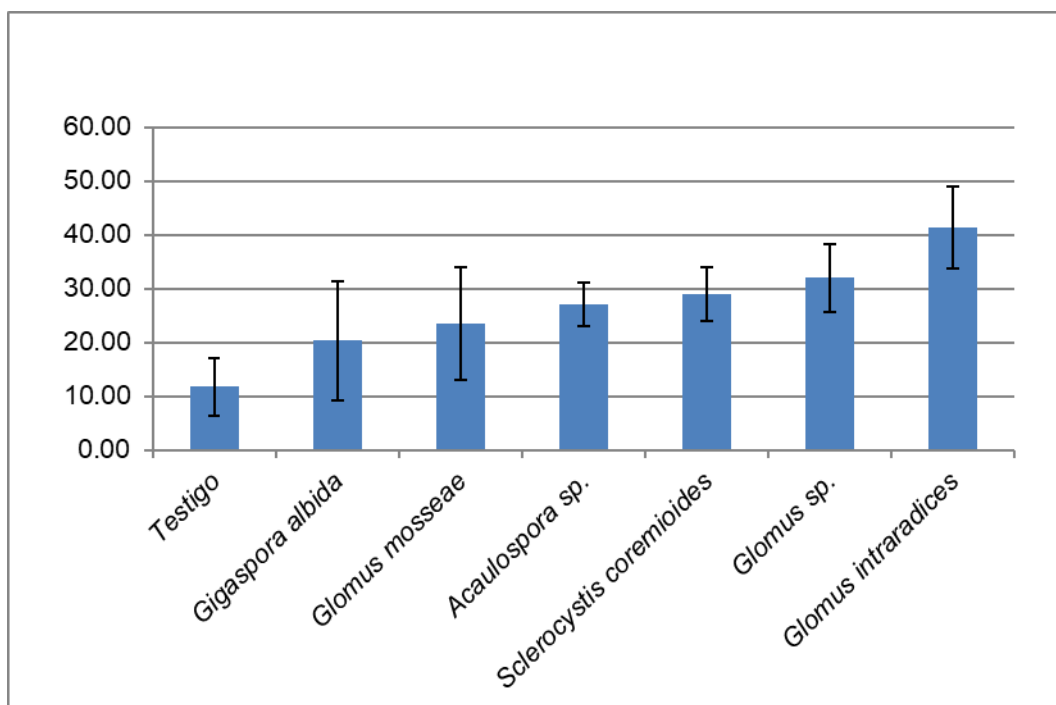


Figura 1. Índice de contenido de clorofila (ICC) en plántulas de chile piquín inoculadas con MVA de Río Tuxpan (Zacatecas) durante 12 semanas

presentaron mayor desarrollo y crecimiento en comparación con el testigo no inoculado. La especie de *Glomus intraradices* demostró ser la más eficiente en cuanto longitud de raíz (15.33 cm), ICC (41.34) y peso seco de la plántula (166 mg). Por lo anterior, podemos concluir que el uso de Micorrizas Vesículo Arbusculares pueden ser utilizadas como biofertilizante.

REFERENCIAS

Aguilera Gómez L., Davies F., Olalde Portugal V., Duray S., Phavaphutanon L. (1999). Influence of phosphorus and endomycorrhiza (*Glomus intraradices*) on gas exchange and plant growth of chile ancho pepper (*Capsicum annum* L. San Luis). *Photosynthetica* 36: 441-449.

Aguirre J., Irizar M., Grajeda O., Peña M., Loredó C., Gutiérrez A. (2009). Los biofertilizantes microbianos: alternativa para la agricultura en México. Folleto Técnico Núm. 5 Tuxtla Chico, Chiapas. INIFAP-CIRP.

Bevege D. (1968). A rapid technique for clearing tannins and staining intact roots for detection of mycorrhizas caused by *Endogone* spp & some records of infection in Australasian plants. *Trans Br Mycol Soc* 51: 808-810.

Cardona G., Peña C., Arcos A. (2008). Ocurrencia de hongos formadores de micorriza arbuscular asociados a ají (*Capsicum* sp) en la Amazonia colombiana. *Agronomía Colombiana* 26(3): 459-470.

Castillo C., Sotomayor L., Ortiz C., Leonelli G., Borie F., Rubio R. (2009). Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on an ecological crop of chili peppers (*Capsicum annum* L.). *Chilean journal of agricultural research* 69(1): 79-87.

Gerdemann J., Nicolson T. (1963). Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Mycol. Soc.* 46: 235-244.

González D., García L., Ceceña D., Grimaldo J., Aviles M., Pérez L., Álvarez G. (2015). Hongos micorrizicos arbusculares y sus efectos en el crecimiento de diferentes cultivares de *Capsicum annum* L. *PHYTON* 84: 345-350.

González M. (1989) Principios de taxonomía de la endomycorriza VA. En Ferrera-Cerrato Ed. *Ecología de la raíz*. Sociedad Mexicana de Fitopatología. 57-84.

González M. (1993). La endomycorriza vesículo-arbuscular. En Ferrera C., González M., Rodríguez M. *Manual de Agromicrobiología*. Trillas, México. 53-91.

International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi (INVAM). West Virginia University. Disponible en <http://invam.caf.wvu.edu/>

Ochoa W. (2014). Uso de medidores de clorofila como herramienta para optimizar el uso de fertilizantes nitrogenados en el cultivo de maíz (*Zea mays* L.): reporte de caso. *Revista Agropecuaria y Agroindustrial La Angostura* 1(1).

Phillips J., Hayman D. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of The British Mycological Society* 55: 158-160.

Smith T. (1980). The effect of season and crop rotation on the abundance of spore of vesicular-arbuscular (VA) mycorrhizal endophytes. *Plant and Soil* 57: 475-479.