

• **COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

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

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE EDAFOLOGÍA

**DIVERSIDAD Y EFECTIVIDAD DE HONGOS MICORRÍZICOS
ARBUSCULARES DE AGROECOSISTEMAS DE CHILE
POBLANO (*Capsicum annuum* L.)**

SANTOS CARBALLAR HERNÁNDEZ

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

DOCTOR EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2017

CARTA DE CONSENTIMIENTO DE USO DE LOS DERECHOS DE AUTOR Y DE LAS REGALIAS COMERCIALES DE PRODUCTOS DE INVESTIGACION

En adición al beneficio ético, moral y académico que he obtenido durante mis estudios en el Colegio de Postgraduados, el que suscribe Santos Carballar Hernández, Alumno (a) de esta Institución, estoy de acuerdo en ser participe de las regalías económicas y/o académicas, de procedencia nacional e internacional, que se deriven del trabajo de investigación que realicé en esta institución, bajo la dirección del Profesor Alejandro Alarcón, por lo que otorgo los derechos de autor de mi tesis

DIVERSIDAD Y EFECTIVIDAD DE HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES DE AGROECOSISTEMAS DE CHILE POBLANO (Capsicum annum L.)

y de los productos de dicha investigación al Colegio de Postgraduados. Las patentes y secretos industriales que se puedan derivar serán registrados a nombre el colegio de Postgraduados y las regalías económicas que se deriven serán distribuidas entre la Institución, El Consejero o Director de Tesis y el que suscribe, de acuerdo a las negociaciones entre las tres partes, por ello me comprometo a no realizar ninguna acción que dañe el proceso de explotación comercial de dichos productos a favor de esta Institución.

Montecillo, Mpio. de Texcoco, Edo. de México, a 04 de agosto de 2017





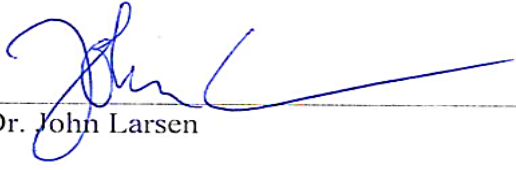
Firma del
Alumno (a)

Vo. Bo. del Consejero o Director de Tesis

La presente tesis titulada: **DIVERSIDAD Y EFECTIVIDAD DE HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES DE AGROECOSISTEMAS DE CHILE POBLANO** (*Capsicum annuum* L.) realizada por el alumno: **SANTOS CARBALLAR HERNÁNDEZ** bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS
EDAFOLOGÍA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO	 Dr. Alejandro Alarcón
ASESOR	 Dr. Ronald Ferrera Cerrato
ASESORA	 Dra. Alba Mónica Montiel González
ASESOR	 Dr. Noé Manuel Montaña Arias
ASESOR	 Dr. John Larsen

Montecillo, Texcoco, Estado de México, agosto 2017

DIVERSIDAD Y EFECTIVIDAD DE HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES DE AGROECOSISTEMAS DE CHILE POBLANO (*Capsicum annuum* L.)

**Santos Carballar Hernández, Dr.
Posgrado de Edafología**

RESUMEN

En este estudio se determinó el efecto del manejo agronómico aplicado en seis agroecosistemas de chile poblano (*Capsicum annuum*) del estado de Puebla, sobre la diversidad y la efectividad de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en plantas de chile. El trabajo se dividió en tres fases experimentales. En la primera fase se determinó el efecto del manejo agronómico y propiedades del suelo en la composición y estructura de la comunidad de HMA en la rizósfera de *C. annuum*. La disponibilidad de P, el pH y la intensidad del manejo agronómico, modificaron significativamente la distribución, la composición y la diversidad de las comunidades de HMA. Los agroecosistemas con manejo agronómico moderado (SMZ) y bajo (SM) mostraron una comunidad de HMA más diversa y equitativa, así como una composición de morfoespecies diferente de la de los agroecosistemas con manejo intensivo (SMC I y II). En la segunda fase se evaluó el efecto del manejo agronómico sobre la efectividad de consorcios nativos de HMA en chile poblano. La efectividad de los consorcios nativos de HMA varió por efecto de la intensidad del manejo agronómico. El consorcio SMZ (manejo moderado) promovió mayor crecimiento, nutrición vegetal y dependencia micorrízica. En contraste, el consorcio SMCI (manejo intenso) produjo menor dependencia micorrízica para la acumulación de biomasa aérea seca, y menor contenido de P, no obstante, este consorcio mejoró la absorción de N y K, y la producción de biomasa total. La tercera fase consistió en la evaluación de la respuesta de plantas de chile poblano a la inoculación con HMA (nativos e introducidos) con respecto a la fertilización. El consorcio nativo SMZ mostró mayor efectividad que las cepas de HMA introducidas, al promover el diámetro de tallo, la biomasa seca total, el área foliar y el número de frutos. No obstante, las plantas fertilizadas mostraron mayor respuesta en la mayoría de las variables agronómicas.

Palabras clave: micorriza arbuscular, agroecosistema, chile, inóculo, crecimiento vegetal.

DIVERSITY AND EFFECTIVENESS OF ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI FROM CHILE POBLANO (*Capsicum annuum* L.) AGROECOSYSTEMS

**Santos Carballar Hernández, Dr.
Edaphology Graduate Program**

ABSTRACT

This study determined the effect of the agronomic management applied to six agroecosystems at Puebla State, on the diversity and effectiveness of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) in “poblano pepper” plants. This research was split into three experimental phases. The first phase determined the effect of agronomic management and soil properties on the composition and structure of the AMF community in the *C. annuum* rhizosphere. The availability of P, pH and the intensity of agronomic management resulted in significant modification on the distribution, composition and diversity of AMF communities. Agroecosystems with moderate agronomic (SMZ) and low (SM) management showed a more diverse and even AMF community; in addition, the morphospecies composition showed differences with respect to those agroecosystems with intensive management (SMC I and II). Second phase evaluated the effects of agronomic management on the effectiveness of native AMF consortia from “poblano pepper”. The effectiveness of native AMF consortia varied due to the intensity of agronomic management. The SMZ consortium (moderate management) promoted greater growth, plant nutrition and mycorrhizal dependency. In contrast, the SMCI consortium (intensive management) produced less mycorrhizal dependency for the accumulation of dry aerial biomass, and lower P content; however, this consortium improved the uptake of N and K, and the total biomass production. Third phase evaluated the response of “poblano pepper” plants to AMF inoculation (introduced and native) with respect to fertilization. The native SMZ consortium was more effective on promoting stem diameter, total dry biomass, leaf area, and number of fruits than the introduced AMF strains. However, fertilized plants showed greater responses in most of the agronomic parameters.

Key words: arbuscular mycorrhiza, agroecosystem, pepper, inoculum, plant growth.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por caminar a mi lado durante estos años.

A mi México lindo y querido por la beca otorgada a través del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología.

Al Colegio de Postgraduados por las facilidades proporcionadas para realizar los estudios de doctorado.

Al laboratorio de micorrizas del CICB-UAT por las facilidades proporcionadas para realizar parte de la investigación.

Al consejo particular: Dr. Alejandro Alarcón, Dr. Ronald Ferrera Cerrato, Dr. Noé Manuel Montaña Arias, Dra. Alba Mónica Montiel González, Dr. John Larsen, por su ayuda y sugerencias para mejorar la investigación y redacción de tesis.

No tengo palabras para expresar mi gratitud a la M en C. Laura Hernández Cuevas, maestra y amiga por compartir su conocimiento, pero sobre todo por ser una persona que siempre esta dispuesta a ayudar y enseñar de manera desinteresada.

A mis compañeros y amigos de los laboratorios en los que se realizó la investigación porque siempre estuvieron dispuestos a ayudarme, y por la paciencia que tuvieron conmigo.

A todas las personas que me han brindado su apoyo y que de alguna u otra manera me han motivado a seguir adelante.

DEDICATORIAS

A ti...

Por darme una familia maravillosa y por regalarme dos de los tesoros más grandes que uno pudiera tener: amor y cariño.

Que siempre me levantas en los momentos más difíciles y además, has sembrado en mi corazón las semillas de la humildad y la perseverancia.

Por iluminar mi vida con tantas personas buenas que están en el momento justo sin necesidad de que les llame.

Que has llenado mi vida de fe, esperanza, optimismo y alegría.

A la memoria de mi padre **Hermenegildo Carballar Alonso** que sacrifico gran parte de su vida en formarme y educarme, y me enseñó a valorar el trabajo, siendo esta la más grande herencia que pude haber recibido.

A mi madre **Francisca Hernández López** la mujer más noble y fuerte, que me llena de paz y amor siempre que lo necesito, y que ha pasado tantas noches cuidando mis sueños de manera desinteresada. Gracias por ser mi madre.

A mis hermanos, **Jaime, Lourdes, Luis, Hermenegildo y Daniel** por compartir su vida conmigo, aunque no siempre se los demuestro, ustedes saben que los quiero, y mucho.

A todos mis sobrinos que a parte de ser la alegría de la familia, siempre me han dado un cariño que a veces creo no merecer. Gracias chicos por quererme tanto.

CONTENIDO

LISTA DE TABLAS	xi
LISTA DE FIGURAS	xi
CAPÍTULO I.....	1
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO II.....	4
OBJETIVOS E HIPÓTESIS.....	4
Objetivo general	4
Objetivos específicos.....	4
Hipótesis general	5
Hipótesis específicas	5
CAPÍTULO III	6
REVISIÓN DE LITERATURA.....	6
LOS HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES: UN COMPONENTE ESENCIAL DE LA RIZOSFERA.....	6
3.1. Beneficios aportados por los HMA	7
3.1.1. Los HMA aumentan la captación de fósforo para las plantas.....	7
3.1.2. Los HMA mejoran la estructura y estabilidad del suelo	8
3.1.3. El papel de los HMA en el control de plagas y enfermedades.....	9
3.2. Los HMA en los agroecosistemas	10
3.2.1. Efecto del manejo agronómico y propiedades del suelo en los HMA	11
3.2.2. Factores que determinan el establecimiento y éxito de los inóculos de HMA	14
3.2.3. Efectividad de inóculos de HMA nativos e introducidos.....	20
3.3. Los HMA en el cultivo de <i>Capsicum</i> spp	25
3.3.1. Diversidad de HMA en agroecosistemas de <i>Capsicum</i> spp.....	25
3.3.2. Efectos de la inoculación de HMA en <i>Capsicum</i> spp.	26
CAPÍTULO IV	29
MANEJO AGRONÓMICO Y PROPIEDADES DEL SUELO EN LA COMPOSICIÓN Y ESTRUCTURA DE LA COMUNIDAD DE HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES EN LA RIZOSFERA DE <i>Capsicum annuum</i> L. *.....	29
RESUMEN.....	29
CHAPTER IV	30
AGRONOMICAL MANAGEMENT AND SOIL PROPERTIES ON THE COMPOSITION AND STRUCTURE OF COMMUNITY OF ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI IN THE RIZOSPHERE OF <i>Capsicum annuum</i> L.....	30
ABSTRACT	30

4.1. INTRODUCCIÓN	31
4.2. MATERIALES Y MÉTODOS	33
4.2.1. Región de estudio y agroecosistemas de muestreo	33
4.2.2. Recolección de muestras de suelo	34
4.2.3. Análisis físico y químico del suelo	36
4.2.4. Extracción, conteo y determinación taxonómica de esporas.....	36
4.2.5 Análisis ecológicos y estadísticos	36
4.3. RESULTADOS	38
4.3.1. Propiedades físicas y químicas del suelo	38
4.3.2. Composición de la comunidad de HMA y curvas de acumulación de especies	38
4.3.3. Efecto del manejo agronómico en la composición y la estructura de la comunidad de HMA.....	39
4.3.4. Efecto de las propiedades del suelo en la distribución y abundancia de los HMA..	45
4.5. DISCUSIÓN.....	46
4.6. CONCLUSIONES	52
CAPÍTULO V	54
INFLUENCIA DEL MANEJO AGRONÓMICO EN LA EFECTIVIDAD DE CONSORCIOS NATIVOS DE HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES EN CHILE POBLANO (<i>Capsicum annuum</i> L.)	54
RESUMEN.....	54
CHAPTER V	55
INFLUENCE OF AGRONOMIC MANAGEMENT IN THE EFFECTIVENESS OF NATIVE CONSORTIA OF ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI IN POBLANO PEPPER (<i>Capsicum annuum</i> L.).....	55
ABSTRACT	55
5.1. INTRODUCCIÓN	56
5.2. MATERIALES Y MÉTODOS	57
5.2.1. Recolección de suelo rizosférico con los consorcios	57
5.2.2. Colonización de la raíz y composición de morfoespecies de HMA en los consorcios	58
5.2.4. Diseño experimental y análisis estadístico.....	60
5.3. RESULTADOS	60
5.3.1. Colonización, número de esporas y morfoespecies de HMA en los consorcios.....	60
5.3.2. Efectividad de los consorcios nativos de HMA en el crecimiento y nutrición de <i>Capsicum annuum</i>	61
5.4. DISCUSIÓN.....	67

5.4.1. Colonización, número de esporas y morfoespecies de HMA en los consorcios.....	67
5.4.2. Efecto de los consorcios nativos de HMA en el crecimiento y nutrición de <i>C. annuum</i>	70
5.5. CONCLUSIONES	73
CAPÍTULO VI	74
RESPUESTA DEL CHILE POBLANO (<i>Capsicum annuum</i> L.) A LA INOCULACIÓN CON HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES DE DIFERENTE ORIGEN	74
RESUMEN.....	74
CHAPTER VI.....	75
RESPONSES OF POBLANO PEPPER (<i>Capsicum annuum</i> L.) TO THE INOCULATION WITH ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI OF DIFFERENT ORIGIN.....	75
ABSTRACT	75
6.1. INTRODUCCIÓN	76
6.2. MATERIALES Y MÉTODOS	78
6.2.1. Propagación de los inóculos de HMA.....	78
6.3.2. Colonización micorrízica y número de esporas	85
6.4. DISCUSIÓN.....	85
6.5. CONCLUSIONES	90
CAPÍTULO VII.....	91
DISCUSIÓN GENERAL DE RESULTADOS Y CONCLUSIONES GENERALES.....	91
CAPÍTULO VIII	95
LITERATURA CITADA	95

LISTA DE TABLAS

Tabla 4.1. Descripción de los agroecosistemas de estudio donde se cultiva chile poblano (<i>C. annuum</i>), en el estado de Puebla.....	35
Tabla 4.2. Caracterización física y química de suelo rizosférico de los seis agroecosistemas donde se cultiva chile poblano, en el estado de Puebla.	39
Tabla 4.3. Morfoespecies de hongos micorrízicos arbusculares en suelo rizosférico de “chile poblano” recolectados en seis agroecosistemas en el estado de Puebla.	41
Tabla 4.4. Número de esporas, abundancia relativa y frecuencia de aislamiento de morfoespecies de HMA presentes en la rizósfera de chile poblano, en el estado de Puebla.	44
Tabla 4.5. Medidas de diversidad de hongos micorrízicos arbusculares en seis agroecosistemas de “chile poblano” en el estado de Puebla.....	45
Tabla 5.1. Características de manejo agronómico, colonización de la raíz, número de esporas y riqueza de morfoespecies de HMA en los consorcios de agroecosistemas de chile poblano (<i>Capsicum annuum</i>) en el estado de Puebla.	62
Tabla 5.2. Efectividad de consorcios nativos de HMA en el crecimiento de plantas de chile poblano (<i>Capsicum annuum</i>).	64
Tabla 6.1. Variables de crecimiento en plantas de chile poblano inoculadas con HMA de diferente origen en condiciones de invernadero.	82

LISTA DE FIGURAS

Figura 4.1. Localización del área de estudio y los agroecosistemas de muestreo. SM= San Martinito, JCI y JCII= Juárez Coronaco I y II, SMZ= Santa María Zacatepec, SMCI y SMCII= San Mateo Capultitlán I y II.	34
Figura 4.2. Curvas de acumulación de especies observadas y estimadas por el modelo asintótico de Clench en la rizosfera de <i>Capsicum annuum</i>	40
Figura 4.3. Dendograma que muestra la similitud en la composición de especies de hongos micorrízicos arbusculares entre los sistemas de producción de <i>Capsicum annuum</i> , del estado de Puebla (México). SM= San Martinito, JCI y JCII= Juárez Coronaco I y II, SMZ= Santa María Zacatepec, SMCI y SMCII= San Mateo Capultitlán I y II.....	43

Figura 4.4. Diagrama de ordenación que muestra el efecto de las propiedades del suelo en la distribución de las morfoespecies de HMA en los agroecosistemas de muestreo de *Capsicum annuum*. JCI y JCII= Juárez Coronaco I y II, SM= San Martinito, SMCI y SMCII= San Mateo Capultitlán I y II, SMZ= Santa María Zacatepec, MO= materia orgánica.46

Figura 5.1. Contenido de N, P y K en tejido foliar de plantas de chile poblano inoculadas con consorcios nativos de HMA. Medias con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey, $\alpha=0.05$). Media \pm el error estándar (n=4). Simbología: SM= San Martinito, JCI y JCII= Juárez Coronaco I y II, SMZ= Santa María Zacatepec, SMCI y SMCII= San Mateo Capultitlán I y II.65

Figura 5.2. Dependencia micorrízica en la acumulación de biomasa aérea (A) y en el contenido de nutrientes (B) de chile poblano inoculado con seis consorcios nativos de HMA. Simbología: SM= San Martinito, JCI y JCII= Juárez Coronaco I y II, SMZ= Santa María Zacatepec, SMCI y SMCII= San Mateo Capultitlán I y II.66

Figura 5.3. Colonización micorrízica arbuscular (A) y número de esporas hongos micorrízicos arbusculares (HMA) (B) en plantas de chile poblano inoculadas con consorcios nativos de HMA en cámara de crecimiento. Medias con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey, $\alpha=0.05$). Media \pm el error estándar (n=10). Simbología: SM= San Martinito, JCI y JCII= Juárez Coronaco I y II, SMZ= Santa María Zacatepec, SMCI y SMCII= San Mateo Capultitlán I y II.68

Figura 6.1. Contenido de N, P y K en tejido foliar de plantas de chile poblano inoculados con HMA de diferente origen. Medias con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey, $\alpha=0.05$). Media \pm el error estándar (n=4).83

Figura 6.2. Efectividad de inóculos de HMA de diferente origen en la productividad de *C. annuum*. A) número de frutos, B) peso fresco de frutos y C) peso seco de frutos. Medias con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey, $\alpha=0.05$). Media \pm el error estándar (n=15).84

Figura 6.3. Colonización micorrízica (A) y número de esporas (B) en plantas de chile poblano inoculadas con HMA de diferente origen y crecidas en condiciones de invernadero. Medias con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey, $\alpha=0.05$). Media \pm el error estándar (n=15).86

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

El chile (*Capsicum* spp.) es uno de los cultivos más importantes en México y en el mundo (Piñeiro et al., 2008). México es considerado el centro de origen del chile; *Capsicum annuum* L. es la especie domesticada por los mesoamericanos (Castellón-Martínez et al., 2012). A partir de su domesticación se ha generado en México gran variación dentro de esta especie, debido a la selección que efectúan los agricultores para diferentes usos (Rodríguez et al., 2007; Contreras et al., 2011). El chile “poblano” es una de las variedades de *C. annuum* económicamente más importantes por la superficie sembrada y por el consumo de la población (Rodríguez et al., 2007); además, tiene relevancia alimenticia y cultural por ser un ingrediente básico de la gastronomía mexicana (Rodríguez et al., 2007; Contreras et al., 2011), posee alto contenido nutricional, y es fuente de vitaminas A, E, B y C (Rodríguez et al., 2007; Morán-Bañuelos et al., 2008). A pesar de la importancia del chile en México, se desconoce la composición, diversidad y efectividad de los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) asociados con este cultivo.

Los HMA pertenecen al Phylum Glomeromycota y se asocian simbióticamente con las raíces de la mayoría de las especies vegetales, ya sean cultivadas o silvestres (Parniske, 2008; Brundrett, 2009; Redecker et al., 2013). Estos hongos mejoran el crecimiento de las plantas aumentando la captación de fósforo disponible en el suelo y otros nutrientes esenciales para su desarrollo (Smith y Smith 2011; Smith et al., 2011). También, producen efectos que no están relacionados con la nutrición vegetal; por ejemplo, ayudan a la estabilización de los agregados del suelo, previenen la erosión y disminuyen el estrés vegetal provocado por factores bióticos y abióticos (Finlay, 2008; Garg y Chandel, 2010; Gianinazzi et al., 2010; Williams et al., 2012; Estrada et al., 2013).

La diversidad y composición de especies de HMA, así como la influencia de estos en la nutrición y crecimiento de las plantas hospedadas, es de gran trascendencia fisiológica y ecológica para comprender el funcionamiento de las comunidades vegetales en términos fisiológicos y ecológicos, (Gianinazzi et al., 2010; Smith y Smith 2012) en ecosistemas naturales (Dandan y Zhiwei, 2007) y agrícolas (Hijri et al., 2006; Oehl et al., 2010). La composición y diversidad de HMA producen consecuencias ecológicas significativas en las comunidades vegetales porque cada especie o consorcio fúngico afectan de diferentes maneras el crecimiento vegetal y la adaptación de las plantas a los factores bióticos y abióticos de su entorno (Garg y Chandel, 2010; Smith et al., 2011). Así, la disminución o pérdida del potencial micorrízico, y de la diversidad morfológica y funcional de los HMA pueden tener efectos adversos sobre las comunidades vegetales (Burrows y Pflieger, 2002; Hart y Reader, 2002; González-Chávez et al., 2008).

En las últimas dos décadas, se ha originado una distribución mundial de HMA a través de la producción y aplicación de inóculos comerciales (Schwartz et al., 2006; Antunes et al., 2009; Pellegrino et al., 2012). Tales inóculos, suelen contener un sólo genotipo de HMA fácilmente cultivable, que se introduce deliberadamente a los lugares en los que pueden o no estar presentes poblaciones nativas de HMA en una abundancia que permiten su establecimiento y coexistencia (Schwartz et al., 2006; Mummey et al., 2009; Koch et al., 2011). No obstante, en la mayoría de los casos no está claro si estos inoculantes promueven el crecimiento vegetal o si se establecen con éxito; y si es así, se conoce muy poco sobre su impacto en las comunidades microbianas locales (Koch et al., 2011; Pellegrino et al., 2012).

De acuerdo con Klironomos (2003) y Hoeksema et al. (2010) el hecho de que las plantas se beneficien o no de la asociación depende de varios factores, que incluyen la identidad de los organismos implicados y sus genotipos, y las condiciones ambientales en las que interactúan. Sin embargo, la mayor parte de la investigación se ha enfocado al estudio de la influencia de las

condiciones ambientales, principalmente la disponibilidad de nutrientes (Klironomos, 2003; Doubková et al., 2013) y se tiene progreso importante en la comprensión de qué grupos de plantas son más propensos a formar simbiosis micorrízica (Hoeksema et al., 2010), pero se conoce poco acerca del efecto de los fenotipos de los HMA sobre el crecimiento vegetal, a pesar de que se ha reconocido que los grupos taxonómicos de HMA pueden diferir significativamente en sus estrategias de crecimiento (Hart y Reader, 2002), funcionalidad (Eun-Hwa et al., 2013), y en su influencia sobre el crecimiento y desarrollo vegetal (Estrada et al., 2013; Doubková et al., 2013).

Las investigaciones sobre HMA en Chile se han enfocado en determinar la respuesta de las diversas variedades de Chile a la presencia y actividad de los HMA, sin considerar la procedencia e identidad del hongo y sin dar importancia al estudio de las comunidades de HMA nativas de la rizosfera del propio Chile. Si bien es cierto que en la agricultura la inoculación con HMA puede ser un aspecto esencial en el manejo agronómico, especialmente cuando las poblaciones nativas de HMA son escasas, la inoculación de cultivos agrícolas con cepas no nativas de HMA como biopotenciadores se promueve sin una clara evidencia de su efectividad simbiótica y de la persistencia de los hongos en los suelos. Por lo anterior, el objetivo de esta tesis consistió en, i) determinar el efecto del manejo agronómico sobre las comunidades nativas de HMA de la rizosfera de Chile poblano; ii) evaluar la efectividad de consorcios nativos de Chile poblano de diferente manejo agronómico, sobre el crecimiento de la misma planta; iii) determinar cómo afecta la procedencia del inóculo de HMA la efectividad de la micorriza arbuscular en el cultivo de Chile poblano.

CAPÍTULO II

OBJETIVOS E HIPÓTESIS

Objetivo general

Determinar el efecto del manejo agronómico y la procedencia del inóculo en la diversidad y efectividad de hongos micorrízicos arbusculares en el cultivo de chile poblano (*Capsicum annuum* L.).

Objetivos específicos

1. Conocer el efecto del manejo agronómico y propiedades del suelo en la composición y la estructura de la comunidad de hongos micorrízicos arbusculares en la rizosfera de *C. annuum*.
2. Determinar el efecto del manejo agronómico sobre la efectividad de consorcios nativos de hongos micorrízicos arbusculares en chile poblano (*C. annuum*).
3. Determinar la respuesta del chile poblano (*C. annuum*) a la inoculación con hongos micorrízicos arbusculares de diferente origen.

Hipótesis general

La intensidad del manejo agronómico y la procedencia del inóculo de HMA afectan significativamente la diversidad y efectividad de hongos micorrízicos arbusculares en el cultivo de chile poblano (*Capsicum annuum* L).

Hipótesis específicas

1. El manejo agronómico y propiedades del suelo afectan significativamente la composición y estructura de la comunidad de hongos micorrízicos arbusculares en la rizosfera de *C. annuum*.
2. La intensidad del manejo agronómico afecta significativamente la efectividad de los consorcios nativos de hongos micorrízicos arbusculares en chile poblano (*C. annuum*).
3. La respuesta del chile poblano (*C. annuum*) a la inoculación con hongos micorrízicos arbusculares varía significativamente por la procedencia del inóculo de HMA.

CAPÍTULO III

REVISIÓN DE LITERATURA

LOS HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES: UN COMPONENTE ESENCIAL DE LA RIZOSFERA

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) pertenecen al Phylum Glomeromycota y colonizan las raíces de la mayoría de las especies vegetales en una asociación conocida como micorriza arbuscular (MA) (Parniske, 2008; Brundrett, 2009). Los HMA constituyen un grupo funcional clave de la rizósfera porque mejoran el crecimiento de las plantas al aumentar la captación de fósforo disponible en el suelo y otros nutrientes esenciales para el crecimiento vegetal (Smith y Smith 2012); también producen otros efectos benéficos que no están relacionados con la nutrición vegetal, por ejemplo, ayudan a la estabilización de los agregados del suelo, en la prevención de la erosión, y en el alivio de estrés provocado por factores bióticos y abióticos que inciden en la planta (Finlay, 2008; Gianinazzi et al., 2010). Una parte de los HMA crece en el interior de la raíz de la planta hospedera, específicamente en las células corticales y la otra en su exterior, ambas comunicadas por un micelio externo que explora gran superficie de suelo (Brundrett, 2009; Smith y Smith 2012). Esta dualidad de hábitats le confiere a los HMA cierta ventaja en el edafosistema, debido a que el micelio intrarradical no tiene competencia o antagonismo con otros microorganismos del suelo lo que le asegura el suministro de nutrientes desde la planta, ventaja que no tienen otros microorganismos que habitan únicamente la rizósfera (Reyes, 2011).

3.1. Beneficios aportados por los HMA

3.1.1. Los HMA aumentan la captación de fósforo para las plantas

El fósforo (P) es un nutriente esencial para todos los organismos, incluyendo las plantas y los hongos, pero es difícil obtenerlo directamente del suelo. La forma en que el P se absorbe, principalmente, es como ortofosfato (P_i , $H_2PO_4^-$), que reacciona fuertemente con el calcio y el magnesio en suelos alcalinos, y con el hierro y el aluminio en suelos ácidos (Smith y Smith 2012). La deficiencia de fósforo, limita la producción de los cultivos, y al igual que en el caso del nitrógeno, la aplicación de fertilizantes no es una opción viable en muchas partes del mundo (Barrios, 2007; Gianinazzi et al., 2010) ya que cuando se añade al suelo en forma soluble pronto queda inmovilizado como fósforo orgánico, fosfatos de calcio u otras formas químicas estables (Garg y Chandel, 2010). Además, las fuentes de fósforo son escasas y se estima que se agotarán en 120 años aproximadamente (Gianinazzi et al., 2010; Smith y Smith, 2012). Por otro lado, el fosfato tiene una baja capacidad de difusión en el suelo y es absorbido de forma rápida y eficiente por las plantas a partir de la solución del suelo, lo que genera una zona de agotamiento alrededor de la raíz (Gianinazzi et al., 2010; Smith et al., 2011; Smith y Smith, 2011; Smith y Smith, 2012).

Las plantas han desarrollado una serie de estrategias que les permiten aumentar la eficiencia con la que pueden captar el P_i del suelo, por ejemplo, un crecimiento rápido de las raíces, una mayor producción de pelos radicales y la formación de micorriza arbuscular, o liberarlo a partir de fuentes insolubles mediante el establecimiento de asociaciones micorrízicas (Smith y Smith, 2012). La micorriza arbuscular (MA) es la estrategia más común y extendida en la naturaleza que aumenta la absorción de nutrientes en las plantas (Brundrett, 2009). El micelio extrarradical de los HMA, unido a las raíces micorrizadas, explora eficazmente sustratos y adquiere nutrientes del suelo, incluidos los principales macronutrientes (N, P y K) y algunos micronutrientes, (Cu, Fe y Zn) (Finlay, 2008; Garg y Chandel, 2010).

Los HMA incrementan el volumen de suelo que puede ser explorado por las raíces de la planta, lo cual hace más eficiente la incorporación de fósforo hacia la planta (Gianinazzi et al., 2010; Barrios, 2007; Smith et al., 2011; Smith y Smith, 2011; Smith y Smith, 2012). Dependiendo de la combinación HMA-planta, la captación de fósforo de manera simbiótica puede ser parcial o incluso dominar sobre la adquisición total de fósforo inorgánico por la planta (Oliveira et al., 2006; Finlay, 2008; Smith et al., 2011). Usando isótopos radiactivos de P (^{33}P y ^{32}P), se ha observado que los HMA contribuyen de manera importante en la captación de P, cuando se registra o no incremento en el crecimiento y contenido de P total en la planta (Olivera et al., 2006).

3.1.2. Los HMA mejoran la estructura y estabilidad del suelo

La estructura del suelo se puede definir como el arreglo de partículas de arena, limo y arcilla, así como de materia orgánica en agregados. El tamaño, la cantidad y la estabilidad de los agregados del suelo reflejan un equilibrio entre los factores que favorecen su formación (enmiendas de materia orgánica, microorganismos y fauna del suelo) y aquellos que les interrumpen (bioperturbación, labranza y cultivos) (Ritz y Young, 2004). La estructura de los poros del suelo, la agregación del suelo y la descomposición de la materia orgánica son influenciadas por la actividad de bacterias, hongos y macrofauna, como las lombrices, las termitas y otros invertebrados (Brussaard, 1997; Power, 2010). La estabilidad de la estructura del suelo es fundamental para mantener su porosidad, facilitar la penetración de la raíz y permitir que los poros puedan retener agua y minerales, con lo que contribuyen a su fertilidad y así, a mejorar las relaciones hídricas en las plantas (Rillig, 2004; Finlay, 2008).

Las funciones físicas, químicas y biológicas del micelio externo (ME) de los hongos micorrízicos contribuye significativamente a la estabilización y mantenimiento de la estructura del suelo, ya que aglutinan las partículas orgánicas y minerales, y estabilizan los agregados, en el

intervalo de 20-200 μm de diámetro (Rillig, 2004; Finlay, 2008). Durante el desarrollo de la MA, los HMA crecen fuera de las raíces micorrizadas para desarrollar una red compleja y ramificada de micelio en el suelo circundante, que puede alcanzar hasta 4 m g s^{-1} (Carballar-Hernández et al., 2013). Esta red puede representar hasta el 50% de micelio de los hongos en el suelo, lo que representa una parte importante de la biomasa microbiana del suelo (Rillig, 2004).

Las hifas del micelio externo secretan una glicoproteína denominada “glomalina”, la cual está relacionada con la estabilidad de los agregados en diferentes tipos de suelo (Rillig, 2004; Barrios, 2007). La formación de una extensa red de hifas y la secreción de glomalina son consideradas como elementos importantes que ayudan a estabilizar los agregados, lo que aumenta la estabilidad de la estructura y la calidad del suelo, por lo tanto, una reducción en la biomasa fúngica resulta en efectos negativos en la estabilidad del suelo, e incrementa el riesgo potencial a la erosión (Finlay, 2008; Gianinazzi et al., 2010).

3.1.3. El papel de los HMA en el control de plagas y enfermedades

Las plagas y enfermedades son poco frecuentes en los ecosistemas naturales (Brussaard, 1997), debido a que hay una amplia gama de organismos benéficos que las mantienen bajo control, a través de la competencia, la depredación, el antagonismo y el parasitismo (Brussaard, 1997; Barrios, 2007). En contraste, la baja diversidad vegetal en los agroecosistemas, los hace más vulnerables a plagas y enfermedades, así como a las perturbaciones ambientales (Brussaard, 1997), de tal manera que se provocan enormes pérdidas globales en los cultivos (Barrios, 2007).

Los HMA tienen un efecto positivo indirecto en la aptitud de las plantas, ya que las protegen contra los patógenos de la raíz (Barrios, 2007; Power, 2010). Los HMA reducen los daños causados por patógenos y nemátodos del suelo, en sus plantas hospederas, a través de una serie de mecanismos que incluyen: a) incremento en la captación de nutrientes como resultado de la

colonización por HMA, lo cual produce plantas más vigorosas capaces de resistir o tolerar el ataque de patógenos que causan enfermedades en la raíz, b) activación de una vía para capturar nutrimentos que compense la pérdida en biomasa de las raíces dañadas y su funcionalidad, c) competencia con los patógenos por los sitios de colonización y los fotoasimilados cuando cohabitan las raíces, d) inducción de cambios fisiológicos en el hospedero al modificar los patrones de exudación de compuestos orgánicos, con lo que causan cambios cualitativos y cuantitativos en las poblaciones microbianas de la micorrizósfera, que pueden influir en el crecimiento y el vigor de las plantas, e) regulación de genes, que resultan en una respuesta sistémica y especializada por la planta y f) cambios morfológicos y anatómicos del sistema radical por la lignificación de las células de las raíces que limita la penetración de los patógenos (Barrios et al., 2007; Garg y Chandel, 2010; Neri-Luna-Villarreal-Ruiz, 2012).

Aunque los HMA protegen a las plantas contra una amplia gama de patógenos del suelo, incluidos los nemátodos parásitos, el uso comercial de HMA como agentes de control biológico aún es incipiente. Por ejemplo, *Rhizophagus intraradices* es capaz de reducir, induciendo resistencia sistémica, hasta más del 50% la presencia de *Radopholus similis* y *Pratylenchus coffeae*, dos nemátodos fitopatógenos de plantas de plátano (Elsen et al., 2008).

3.2. Los HMA en los agroecosistemas

La contribución de los HMA a la diversidad de los agroecosistemas, que considera no sólo a las plantas cultivadas, sino a los microorganismos y a los grupos vegetales y faunísticos asociados, ha recibido poca atención a pesar de su amplia distribución (Rivera et al., 2003) y de la función biológica que desempeñan (van der Heijden et al., 1998). La diversidad genética, morfológica y funcional de los HMA afecta varias funciones importantes como: la colonización de la raíz, el crecimiento de las hifas extrarradicales y la absorción de fósforo (Burrows y Plefer, 2002; Jeffries

et al., 2003; Sanders, 2003; Eun-Hwa et al., 2013). Hay evidencias que indican que la variación en la composición de la comunidad de HMA, desempeña un papel importante en la diversidad vegetal, la variabilidad y productividad de los ecosistemas (van der Heijden et al., 1998; Hijri et al., 2006; Dandan y Zhiwei, 2007), lo cual está relacionado con la diversidad funcional de los HMA (Eun-Hwa et al., 2013).

3.2.1. Efecto del manejo agronómico y propiedades del suelo en los HMA

Las prácticas intensivas de manejo agrícola como la fertilización química, el control de plagas, el monocultivo continuo y la labranza afectan las interacciones HMA-planta (Oehl et al., 2004, 2010; Alguacil et al., 2014; Bainard et al., 2014). Estas prácticas, solas o en combinación, ejercen una enorme presión selectiva sobre los HMA que da forma a la estructura de la comunidad modificando varias de sus características biológicas como: la estrategia de esporulación, la asignación de recursos y la distribución espacial (Verbruggen y Kiers, 2010). Por lo tanto, describir la diversidad de las comunidades de HMA en los campos agrícolas es importante para conocer los efectos del manejo agrícola sobre éstas, y con base a ello desarrollar planes de manejo *in situ* para conservar y aprovechar estos hongos (Douds y Millner, 2000; Alguacil et al., 2014).

Los estudios que comparan la estructura de la comunidad de HMA en suelos agrícolas con diferente manejo agronómico (labranza, uso de fertilizantes y plaguicidas, rotación de cultivos, entre otros) han encontrado que la estrategia de esporulación es una de las características de los HMA fuertemente afectada por la agricultura. Los HMA aislados de campos agrícolas manejados de manera intensiva (sin rotación de cultivos y con altos insumos) presentan un inicio más temprano de la esporulación en comparación con la misma especie en sistemas agrícolas y pastizales con poco manejo (Oehl et al., 2003, 2009, 2010), lo que sugiere que el intenso manejo agrícola promueve una reproducción más temprana de los HMA (Verbruggen y Kiers, 2010).

La intensidad del manejo agrícola puede favorecer la abundancia de especies de la familia Glomeraceae. En los sitios con altos insumos, estas especies representan el mayor número (50%) de esporas registradas en la comunidad; en contraste, en los agroecosistemas con moderado y poco manejo agronómico, constituyen menos del 30% de las esporas encontradas (Verbruggen et al., 2012). Así mismo, *Claroideoglopus etunicatum*, *Glomus caledonium*, *G. albidum*, *Funneliformis geosporum*, *F. mosseae* y *Rhizophagus intraradices*, que se reportan de manera frecuente y con alta abundancia en suelos agrícolas, son las primeras especies en esporular en los sitios manejados intensivamente (Oehl et al., 2004, 2010).

También se ha observado que el número de especies de HMA disminuye con el aumento de la tecnificación agrícola en fincas de café (Arias et al., 2012; Trejo et al., 2011), en huertos de aguacate y en cultivos de maíz (González-Cortes et al., 2012), y en sitios con diferente manejo agrícola y uso de suelo (Oehl et al., 2010; Verbruggen et al., 2012). Por otro lado, varias especies de HMA parecen preferir o incluso estar restringidas a agroecosistemas con manejo orgánico, ya que se ha reportado mayor número de especies de los géneros *Acaulospora*, *Scutellospora* y *Entrophospora* en las parcelas con manejo orgánico y labranza moderada que en aquellas con intensa labranza (Oehl et al., 2004, 2010; Öpik et al., 2006). Esto indica que no sólo la reducción en la labranza, sino también la agricultura orgánica pueden aumentar la diversidad de géneros y de especies de HMA (Oehl et al., 2004; Verbruggen et al., 2012; Alguacil et al., 2014).

La aplicación continua de altas dosis de insumos químicos puede conducir a la pérdida de la diversidad genética y funcional de los HMA, y por lo tanto, reducir la fertilidad y calidad del suelo, y disminuir la capacidad de las plantas para absorber los nutrientes, lo cual tiene un efecto negativo en la estabilidad de los agroecosistemas (Oehl et al., 2009, 2010; Alarcón et al., 2012). Por tal razón, es importante mantener la producción de los cultivos agrícolas bajo un enfoque sustentable, basado en la aplicación moderada de insumos agronómicos, para mantener la mayor

riqueza de HMA, que incluya especies especialistas de hábitats específicos (Verbruggen et al., 2012).

Se desconoce si la pérdida de la diversidad o la ausencia de especies especialistas de HMA, puede repercutir en la funcionalidad de los agroecosistemas (Oehl et al., 2004, 2010; Alarcón et al., 2012). Además, se ignora el tiempo que tardan en reaparecer las especies especialistas después de ser sometidas a un intenso manejo del suelo, o si éstas pueden ser reintroducidas exitosamente (Oehl et al., 2010; Verbruggen et al., 2012). Lo anterior resalta la importancia de conocer cómo responden las especies de HMA después de ser expuestas al manejo agronómico, con el propósito de ayudar a promover prácticas de manejo agrícola, como la aplicación de materia orgánica, que beneficien la abundancia de especies de HMA, o que favorezcan su restablecimiento en los agroecosistemas (Alguacil et al., 2014).

Las características físicas y químicas del suelo afectan la composición y la distribución de especies de HMA (Oehl et al., 2010; González-Cortes et al., 2012; Jansa et al., 2014). En general el pH y el contenido de materia orgánica estimulan la producción de esporas, el porcentaje de colonización y la riqueza de especies de HMA (Cardona et al., 2008; Vays y Vays, 2012; Vergurren et al., 2012; Alguacil et al., 2014). En contraste, el alto contenido y la disponibilidad de fósforo afectan negativamente la composición, distribución y diversidad de la comunidad de HMA (Oehl et al., 2010; Vergurren et al., 2012; Jansa et al., 2014). Además, la humedad, la textura y el pH son factores que pueden afectar la distribución y la composición de los HMA en ecosistemas naturales y agrícolas (Hijri et al., 2006; Kivlin et al., 2011; Bainard et al., 2014; Jansa et al., 2014).

Mediante análisis multivariados se ha demostrado que la mayoría de las especies de HMA parecen preferir o incluso estar restringidas a sitios donde la cantidad de fósforo asimilable es baja y el pH ligeramente básico (Vergurren et al., 2012; Bainard et al., 2014; Jansa et al., 2014). Sin embargo, las especies individuales de HMA se comportan de manera diferente; por ejemplo, las

abundancias de *Funneliformis mosseae* y *Paraglomus occultum* se correlacionaron positivamente con el contenido de carbonato o con el pH del suelo, mientras que la de *Scutellospora pellucida* tuvo una tendencia opuesta. Para el contenido de fósforo se ha observado una disminución significativa en la abundancia de *Claroideoglomus claroideum* y *Diversispora celata*; por el contrario, la abundancia de *F. mosseae* se correlacionó positivamente con el contenido de fósforo (Bainard et al., 2014; Jansa et al., 2014). Por otro lado, las abundancias de *Gigaspora* y *Diversispora* se correlacionaron negativamente con el contenido de limo o arcilla del suelo, lo cual indica que estos taxones prefieren suelos de textura arenosa (Jansa et al., 2014).

Los resultados de los diversos trabajos indican que muchas especies HMA prefieren ciertos hábitats, y sugieren que varias especies tienen nichos específicos y estrechos. Además, indican que las especies presentan diferentes niveles de tolerancia a la intensidad del manejo y a las características del suelo (Verbruggen et al., 2012; Alguacil et al., 2014), lo que origina el agrupamiento particular de los HMA en ciertas parcelas de estudio.

3.2.2. Factores que determinan el establecimiento y éxito de los inóculos de HMA

La inoculación se refiere a la aplicación de propágulos de HMA (esporas, hifas y fragmentos de raíces colonizadas) en semillas, en plántulas o en el suelo listo para la siembra (Adholeya et al., 2005; Tarbell y Koske, 2007). En teoría, cuanto mayor sea el número de propágulos viables en el inóculo, más rápida será la colonización de las raíces (Adholeya et al., 2005), debido a que una baja cantidad de estos dará lugar a un aumento en la fase de latencia (lag) antes de que ocurra la colonización y propiciará una menor colonización durante la fase de establecimiento y crecimiento (Tarbell y Koske, 2007; Faye et al., 2013).

La efectividad de los inóculos de HMA para promover el crecimiento vegetal, puede variar de acuerdo con el producto, las condiciones ambientales, el método de aplicación y otras variables

(Adholeya et al., 2005; Hoeksema et al., 2010; Vosátka et al., 2012). Además, la compatibilidad, la capacidad de carga y los efectos prioritarios del hospedero, son procesos que directa o indirectamente afectan la competencia por la raíz o por espacio en el suelo, por lo tanto determinan la persistencia y el éxito de los inóculos de HMA (Hoeksema et al., 2010; Verbruggen et al., 2013). Si se logra comprender cómo funcionan las interacciones HMA-planta, a nivel genético y fisiológico, se puede optimizar el manejo para estimular el establecimiento de cepas introducidas de HMA (Verbruggen et al., 2013).

Compatibilidad. A pesar de que la relación entre los HMA y las plantas hospederas generalmente se ha considerado inespecífica, esta relación está estrictamente regulada a nivel estructural y fisiológico (Kapoor et al., 2008). La compatibilidad de las plantas con los HMA depende de señales bioquímicas y genéticas específicas que se expresan en todas las fases de desarrollo de la simbiosis, y permiten el reconocimiento, la colonización y el intercambio de nutrientes (Ramírez y Rodríguez, 2010).

La relación HMA-planta requiere del reconocimiento y del acoplamiento de los procesos en espacio y tiempo que llevan a establecer la simbiosis (Harrison, 2005). Esto origina que algunas especies de HMA sean más afines hacia ciertos hospederos, mientras que otras son generalistas (Oehl et al., 2010; Öpik y Moora, 2012). En general, una cepa de HMA que es generalista puede establecerse mejor y persistir más en la rizósfera (Verbruggen et al., 2013). Por lo tanto, la suposición de que los HMA seleccionados, en condiciones de invernadero por su efectividad (tomando en cuenta criterios, como densa colonización de la raíz, abundante esporulación y aumento del crecimiento) pueden mejorar el crecimiento u otros parámetros de rendimiento vegetal en campo, para diferentes especies vegetales, bajo condiciones no determinadas, ha dado lugar a resultados poco concluyentes (Adholeya et al., 2005).

Además de la afinidad con la planta, es necesario conocer qué tan compatibles son los HMA inoculados con las condiciones ambientales locales y con las prácticas de manejo, ya que en los sistemas de producción de cultivo convencional existen numerosas prácticas (aplicación de agroquímicos, labranza, uso de enmiendas orgánicas) que pueden inhibir el desarrollo de los HMA, sobre todo en la capa superficial del suelo (Siddiqui y Kataoka, 2011). Por ejemplo, la labranza, los altos niveles de fertilización (en particular fósforo) y períodos frecuentes de barbecho, disminuyen la abundancia de propágulos viables de HMA, lo que causa baja colonización en la raíz y un crecimiento vegetal sub-óptimo (Hoeksema et al., 2010; Vosátka et al., 2012; Doubková et al., 2013).

Los sistemas agrícolas suelen estar dominados por el género *Glomus sensu lato*, el cual está bien adaptado a las condiciones agrícolas (Oehl et al., 2010). Bajo estas circunstancias, el establecimiento de los inóculos es difícil, ya que éstos compiten con las comunidades nativas bien adaptadas (Verbruggen et al., 2012; 2013). Un enfoque prometedor o ideal sería compaginar los posibles inoculantes con condiciones específicas de campo (tipo de suelo, el pH, etc.) y los hospederos (Oehl et al., 2010; Fester y Sawers, 2011; Öpik y Moora, 2012).

En los suelos con baja diversidad de HMA, originada por el continuo manejo agrícola, se espera que las plantas y el agroecosistema en general se beneficien por la inoculación, ya que esta condición propicia que haya nichos disponibles, lo cual puede aumentar la compatibilidad entre la planta y los HMA inoculados (Hoeksema et al., 2010). En este sentido, la baja diversidad de HMA asociados con los cultivos puede favorecer, en lugar de limitar, el establecimiento de los inóculos de HMA (Fester y Sawers, 2011; Verbruggen et al., 2013). Para que la inoculación tenga éxito, se recomienda idealmente, hacer un estudio de las comunidades para conocer qué especies de HMA están presentes de manera natural en el agroecosistema, así como evaluar el potencial infectivo de los HMA, para inocular especies o tipos funcionales de HMA que complementen a los nativos. No

obstante, cuando no hay conocimiento previo de las especies o de los nichos disponibles, como a menudo sucede, se recomienda la aplicación de una mezcla de especies, para aumentar la probabilidad de que al menos una de ellas sea capaz de establecerse y persistir (Verbruggen et al., 2013) y en consecuencia, realizar las funciones que competen a este grupo de hongos.

Capacidad de carga y abundancia. Dos aspectos de la abundancia de los HMA están estrechamente relacionados entre sí y determinan el establecimiento de los inóculos, a) la cantidad de inóculo, y b) la capacidad de carga; es decir, el grado en que un sistema (especie vegetal o ecosistema) puede soportar una población de HMA. Algunos suelos agrícolas pueden tener una capacidad de carga limitada, causada por una baja asignación de recursos (compuestos de carbono) de la planta hacia los HMA (Verbruggen et al., 2013). Esto ocurre en cultivos donde proliferan plantas no micotróficas o con baja dependencia micorrízica, o por la aplicación de altos niveles de fertilizantes, o bien por la influencia de factores ambientales. Por ejemplo, los altos niveles de fósforo generalmente no favorecen la diversidad de HMA, ya que esta condición suprime la colonización de las raíces y, por lo tanto, el crecimiento de los HMA (Doubková et al., 2013; Verbruggen et al., 2013).

Si los HMA inoculados tienen bajas tasas de reproducción y son poco abundantes, serán fácilmente desplazados por los HMA nativos. Los mecanismos por los cuales esto puede ocurrir incluyen estocasticidad demográfica o efecto Allee, donde los HMA más abundantes tienen mayor aptitud para reproducirse, dispersarse y establecerse en los sistemas (Verbruggen et al., 2013). Cuando existe alta abundancia de HMA se origina mayor crecimiento y anastomosis de las hifas, lo que propicia mayor volumen de suelo explorado y colonización de las raíces (Hoeksema et al., 2010; Verbruggen et al., 2013). Además, las especies abundantes pueden ser favorecidas a través de una retroalimentación positiva al colonizar simultáneamente varias plantas, lo que lleva al predominio de estas especies en la comunidad (Fester y Sawers, 2011; Öpik y Moora, 2012).

Actualmente se carece de información crítica sobre la cantidad necesaria de propágulos que garantizan el establecimiento exitoso de los inóculos. Sin embargo, en los últimos años, se ha logrado el seguimiento de la inoculación a lo largo del tiempo, dado el creciente desarrollo de métodos moleculares (Verbruggen et al., 2013). Pellegrino et al. (2011) determinaron la efectividad y persistencia de dos cepas de *Funneliformis mosseae*; encontraron fuerte evidencia de la persistencia de al menos una de las cepas, sin embargo, los niveles de inóculo aplicados fueron más o menos equivalentes a la densidad de la población nativa. Si tales dosis son un requisito para el establecimiento y persistencia de los HMA con éxito, se reduce seriamente la viabilidad de los enfoques de la inoculación, ya que la cantidad aplicada debe escalar hasta tasas de aplicación de 7 toneladas por hectárea (Verbruggen et al., 2013).

Tamaño y eficiencia de las poblaciones nativas de HMA. La suposición implícita de la inoculación es que los sistemas agrícolas presentan una abundancia o funcionamiento limitado de los HMA, y que esto puede revertirse mediante la aplicación de un inóculo fúngico (Adholeya et al., 2005). No obstante, la limitación no sólo surge de la baja disponibilidad o calidad de los propágulos de HMA, sino también de las complejas dinámicas ecológicas y evolutivas de las interacciones planta-hongo (Verbruggen et al., 2013). Cuando los HMA nativos en los sistemas agrícolas son abundantes y efectivos para promover el crecimiento vegetal, no siempre hay resultados positivos por la inoculación (Vosátka et al., 2012). Antes de hacer la inoculación, es necesario determinar si la cantidad de los HMA nativos es suficiente y son funcionales para promover el crecimiento vegetal y los procesos ecológicos en los agroecosistemas (Verbruggen et al., 2013). Cuando hay una baja diversidad (genética y funcional) de HMA, los beneficios brindados por estos pueden disminuir, ya que diferentes especies o genotipos de HMA proporcionan beneficios complementarios (Fester y Sawers, 2011).

Los efectos de la inoculación con HMA pueden ser transitorios y están relacionados con su abundancia e identidad taxonómica; no obstante, si un campo agrícola es apto para un funcionamiento adecuado de la comunidad de HMA, la inoculación puede tener efectos benéficos a largo plazo. Para ello, es necesario el establecimiento exitoso de un cultivo y la persistencia de los inóculos de HMA aplicados (Verbruggen et al., 2013). En los agroecosistemas, la colonización, el número de esporas y la riqueza de especies HMA se pueden estimular mediante la adecuación de prácticas de manejo, por ejemplo, reducir el régimen de fertilización (Smith y Read, 2008) o el barbecho, así como evitar la proliferación de cultivos no micorrízicos (Karasawa y Takebe, 2011), o mediante sistemas de manejo orgánico que incluyan la siembra temporal de gramíneas y leguminosas. Sin embargo, la pérdida de la diversidad genética de HMA es más difícil de revertir, ya que esto requiere de la dispersión y el establecimiento de los HMA en el sistema (Verbruggen et al., 2013).

Efectos prioritarios. Un fenómeno que puede afectar la efectividad y la composición de HMA son los efectos prioritarios; es decir, procesos por los cuales las especies de HMA presentes inicialmente en una comunidad determinan la composición de una comunidad eventual (Verbruggen et al., 2013). La estimación de los efectos de prioridad en las comunidades de HMA es limitada. Hausmann y Hawkes (2010) encontraron que el orden en que las plantas (cultivadas o silvestres) micorrizadas se establecen en campo, determina los taxones de HMA que conforman a la comunidad. Así mismo, cuando se introducen plantas micorrizas en una comunidad natural de HMA la diversidad y la composición resultante se altera en gran medida en comparación con las comunidades de HMA en donde se introducen plantas no inoculadas (Mummey et al., 2009). Además, la composición de la comunidad de HMA puede variar en función del tipo de suelo y de las especies de HMA que se utilicen como inóculo (Jin et al., 2013).

3.2.3. Efectividad de inóculos de HMA nativos e introducidos

Los efectos positivos de la inoculación son más evidentes y económicamente viables en suelos áridos y de baja fertilidad donde los nutrientes y los recursos hídricos son escasos (Vosátka et al., 2012; Williams et al., 2012). Así mismo, en la agricultura orgánica donde se mantienen sistemas de producción con bajos insumos, el papel de los HMA ha incrementado significativamente la producción de los cultivos, en comparación con la agricultura convencional (Fester y Sawers, 2011; Vosátka et al., 2012). La aplicación de inóculos en la agricultura convencional aún es discutible por su efecto incierto, ya que la inoculación puede ser eficaz, pero económicamente inviable sobre todo en cultivos extensivos de bajo valor (Siddiqui y Kataoka, 2011; Vosátka et al., 2012). La relación costo-beneficio de la aplicación de inóculo es crucial para su uso a gran escala, sin embargo, se carece de éste tipo de investigaciones. No obstante, el ahorro de fertilizantes, de agua y de plaguicidas, debe compararse con el aumento del rendimiento de los cultivos, el costo del inóculo y la aplicación de éste (Vosátka et al., 2012).

Los HMA representan valiosas oportunidades para mejorar la agricultura actual en relación con las diversas condiciones de estrés biótico y abiótico a las cuales están sometidos los cultivos agrícolas (Estrada et al., 2013). La simbiosis que establecen los HMA con las plantas, se ha reportado como claro ejemplo de mutualismo, donde los HMA mejoran el crecimiento vegetal u otros parámetros del rendimiento vegetal (Hoeksema et al., 2010). Sin embargo, debido a que los HMA pueden demandar una gran cantidad de fotosintatos a sus hospedantes, no es apropiado asumir que los HMA siempre estimulan el crecimiento vegetal (Johnson et al., 1997; Klironomos, 2003). Johnson et al. (1997) mencionaron que el crecimiento en plantas micorrizadas (efectividad) puede variar de positivo (mutualismo) a neutral (comensalismo), e incluso negativo (parasitismo), por lo que la simbiosis debe definirse más adecuadamente como un continuo que va del parasitismo al mutualismo. Para entender de manera adecuada el papel de los HMA en el crecimiento vegetal,

es necesario conocer qué factores determinan su papel en el continuo mutualismo-parasitismo (Klironomos, 2003; Sensoy et al., 2007; Tchabi et al., 2010).

De acuerdo con Klironomos (2003) y Hoeksema et al. (2010) el hecho de que las plantas se beneficien o no de la asociación depende de factores como, el genotipo de ambos organismos implicados y las condiciones ambientales con las que interactúan. La mayor parte de investigación se ha enfocado al estudio de la influencia de las condiciones ambientales, principalmente la disponibilidad de nutrientes (Klironomos, 2003; Doubková et al., 2013) y se tiene un progreso importante en la comprensión de qué grupos de plantas son más propensos a formar la simbiosis micorrízica (Hoeksema et al., 2010). Se conoce poco acerca del efecto de los fenotipos de los HMA sobre el crecimiento vegetal, a pesar de que se ha reconocido que los grupos de HMA pueden diferir significativamente en sus estrategias de crecimiento (Hart y Reader, 2002) y en su influencia sobre el crecimiento y desarrollo vegetal (Estrada et al., 2013; Doubková et al., 2013).

Los productores agrícolas, generalmente, usan inóculos comerciales de HMA porque sólo tienen una especie de HMA y porque su aplicación es sencilla y su costo es bajo. Caso contrario a las poblaciones nativas de HMA, los cuales rara vez están caracterizadas, y requieren de su recolección y cultivo (Mummey et al., 2009). A pesar de esto, la producción de inóculos nativos de HMA se recomienda como una alternativa a las cepas introducidas (no nativas) que se encuentran en los inóculos comerciales (Pellegrino et al., 2011), ya que se ha demostrado que la asociación de plantas nativas con HMA introducidos origina respuestas más negativas en el crecimiento vegetal; en contraste, cuando se usan HMA y plantas nativas la respuesta del crecimiento es positiva (Klironomos, 2003). Además, el uso de inóculos comerciales puede tener efectos negativos sobre la diversidad de HMA de los ecosistemas naturales (Antunes et al., 2009; Mummey et al. 2009; Pellegrino et al., 2011), por la introducción de patógenos asociados con los inóculos o porque las cepas introducidas se convierten en invasoras; es decir, son capaces de

suprimir directa o indirectamente a las comunidades nativas de HMA (Schwartz et al., 2006; Tarbell y Koske 2007).

Teniendo en cuenta las diversas respuestas de las especies vegetales a los HMA (Klironomos 2003; Sensoy et al., 2007; Tchabi et al., 2010) es necesario identificar combinaciones adecuadas de plantas y de especies de HMA con el fin de obtener el máximo beneficio de su simbiosis (Klironomos 2003); sin embargo, a la fecha, los métodos modernos de producción agrícola han prestado poca atención a esto (Sensoy et al., 2007). La identificación de aquellas especies o cepas, que sean más útiles para aumentar la producción, debe tomarse en cuenta antes de hacer una inoculación en campo (Ouahmane et al., 2007; Tchabi et al., 2010; Williams et al., 2012).

Por razones ecológicas y económicas, el uso de HMA nativos es más recomendable en lugar de HMA introducidos (Tchabi et al., 2010), debido a que los HMA nativos son importantes contribuyentes a la productividad y funcionamiento de los ecosistemas (van der Heijden et al., 1998). Además, se reconoce que los HMA nativos afectan positivamente la dependencia micorrízica de la planta hospedera, el bio-funcionamiento de la microbiota del suelo y otros procesos biológicos como la intemperización de roca fosfórica (Ouahmane et al., 2007). El uso de una mezcla de HMA nativos aumenta la posibilidad de incluir una cepa eficaz y, a la vez, crea un entorno más favorable para los procesos de los ecosistemas (Ouahmane et al., 2007; Tchabi et al., 2010).

A pesar de lo anterior, en las últimas dos décadas, se ha promovido el uso de HMA no nativos mediante la producción y aplicación de inóculos comerciales (Schwartz et al., 2006; Antunes et al., 2009; Pellegrino et al., 2011). Tales inóculos, suelen contener un sólo genotipo de HMA fácilmente cultivable (principalmente especies del género *Glomus sensu lato*), que se introducen deliberadamente en lugares donde las poblaciones nativas de HMA pueden o no,

permitir su establecimiento y su coexistencia (Schwartz et al., 2006; Mummey et al., 2009; Koch et al., 2011). En la mayoría de los casos no está claro si estos inoculantes promueven el crecimiento vegetal o si se establecen con éxito, y si es así, se conoce muy poco sobre su persistencia e impacto en las comunidades microbianas locales (Koch et al., 2011; Pellegrino et al., 2011).

Varios trabajos han utilizado HMA nativos y alóctonos para probar la hipótesis de que los HMA nativos promueven de manera más eficaz el crecimiento de las plantas (Ouahmane et al., 2007; Estrada et al., 2013; Williams et al., 2012), ya que se cree que están mejor adaptados a un lugar determinado, y a las condiciones climáticas y de cultivo (Klironomos 2003; Tchabi et al., 2010).

Tchabi et al. (2010) reportaron que la mayoría de los HMA nativos (14 de 27 especies) aumentaron el peso de tubérculos de ñame (*Dioscorea rotundata* Poir) en comparación con el control sin HMA, y con las cepas comerciales introducidas. Aunado a esto, Estrada et al. (2013) encontraron que las plantas de *Asteriscus maritimus* L. expuestas a altos niveles de salinidad e inoculadas con HMA nativos presentaron mayor peso seco de la parte aérea y mayor supervivencia que las plantas inoculadas con HMA introducidos. En *Podocarpus cunninghamii* Colenso, la inoculación con HMA nativos favoreció la supervivencia de las plantas cuando se llevaron a campo y aumentó significativamente el crecimiento de las plantas en condiciones de vivero y de campo (Williams et al., 2012).

Además de mejorar el crecimiento, el rendimiento y la supervivencia de las plantas, la inoculación con HMA nativos, puede tener efectos selectivos sobre ciertas comunidades microbianas del suelo y modificar positivamente sus capacidades funcionales, específicamente, su capacidad para liberar ácidos carboxílicos, lo cual permite a las plantas inoculadas con HMA nativos movilizar P a partir de sustratos a base de roca fosfórica más eficientemente en comparación con la inoculación de una cepa comercial de *R. intraradices*. De esta manera, los

HMA, junto con los microorganismos del suelo, favorecen el crecimiento vegetal a través de su potencial para intemperizar roca fosfórica. Esto sugiere que la actividad funcional de los HMA podría ser resultado de una asociación microbiana multitrófica, que incluye comunidades microbianas (seleccionadas por los HMA para el crecimiento vegetal) influenciadas por la hifosfera y micorrizósfera (Ouahmane et al., 2007). Bajo condiciones de estrés por salinidad, los inóculos nativos optimizan el rendimiento del fotosistema II, mejoran la tasa de transpiración y aumentan el contenido de glutatión en *A. maritimus*, lo cual indica que los HMA nativos protegen a la planta del estrés oxidativo, mediante la activación de mecanismos implicados en la síntesis de glutatión y protegiendo el aparato fotosintético (Estrada et al., 2013).

Algunos estudios han demostrado que el crecimiento vegetal no está relacionado con la procedencia o tipo de inóculo de HMA. Por ejemplo, en *Cupressus atlantica* G. la inoculación con HMA nativos e introducidos favoreció de manera similar el crecimiento de las plantas; sin embargo, cuando se adicionó roca fosfórica, la inoculación con HMA nativos fue más eficaz (Ouahmane et al., 2007). En *Knautia arvensis* L. no se observaron diferencias significativas en el rendimiento y la absorción de P, Mg y Ca, entre los inóculos nativos e introducidos (Doubková et al., 2013). Los HMA introducidos pueden colonizar de manera intensa el sistema radical; sin embargo, las cepas de HMA nativos pueden ser más eficientes para promover el crecimiento, aunque la colonización de la raíz sea escasa (Estrada et al., 2013); en contraste, el mayor porcentaje de colonización por los inóculos introducidos puede disminuir el crecimiento vegetal (Klironomos, 2003) y el peso seco de tubérculos de ñame (Tchabi et al. 2010) debido al aumento en la demanda de carbohidratos.

3.3. Los HMA en el cultivo de *Capsicum* spp

El chile (*Capsicum annuum*) es una de las hortalizas más importantes en la dieta de Mesoamérica y en muchas partes del mundo (Piñeiro et al., 2008); en México, se ha domesticado en diversos lugares y de distintas formas, por lo que se le considera el centro de origen (Piñeiro et al., 2008; Contreras et al., 2011; Castellón-Martínez et al., 2012). El chile “poblano” es una de las variedades de *C. annuum* económicamente más importantes por la superficie sembrada y por el consumo de la población (Rodríguez et al., 2007); además, tiene relevancia alimenticia y cultural por ser un ingrediente básico de la gastronomía mexicana (Rodríguez et al., 2007; Contreras et al., 2011), posee alto contenido nutricional, y es fuente de vitaminas A, E, B y C (Rodríguez et al., 2007; Morán-Bañuelos et al., 2008). A pesar de la importancia del chile en México y de sus asociados microbianos benéficos, como los HMA, se desconoce la composición y diversidad de este grupo de hongos en este cultivo.

3.3.1. Diversidad de HMA en agroecosistemas de *Capsicum* spp

En los agroecosistemas de chile (*Capsicum* spp.) se ha determinado que los HMA se asocian con diferentes especies y variedades de chile (Cardona et al., 2008; Castillo et al., 2010; Boonlue et al., 2012; Chen et al., 2012; Vays y Vays et al., 2012). De acuerdo con Cardona et al. (2008) y Vays y Vays (2012) las plantas de chile presentan valores de colonización que varían desde 34% hasta 68%. Así mismo, se ha reportado una alta variación en el número de esporas presentes en el suelo rizosférico de las especies de *Capsicum* (Cardona et al., 2008). Por ejemplo, en *C. annum* el número de esporas puede variar desde 3 hasta 160 en 50 g s⁻¹ (Chen et al., 2012; Vays y Vays et al., 2012), mientras que en *C. frutescens*, cultivado de manera orgánica, el número de esporas fluctúa de 135 a 395 en 50 g s⁻¹ (Boonlue et al., 2012).

Existen pocos trabajos que determinen la diversidad de los HMA en el cultivo de chile (*Capsicum* spp.). La mayor parte de los estudios se han restringido a determinar la respuesta de las variedades de chile, a la presencia y actividad de los HMA (Sensoy et al., 2007; Kaya et al., 2009; Kim et al., 2010; Douds et al., 2012), sin considerar la procedencia e identidad taxonómica del hongo. No obstante, antes de utilizar a los HMA como biomejoradores del crecimiento vegetal de estas plantas, es necesario determinar la riqueza y diversidad de estos microorganismos. Este conocimiento permitirá a los productores implementar prácticas que promuevan una comunidad de HMA funcionalmente benéfica para las plantas, y desarrollar agroecosistemas más sustentables y productivos (Bainard et al., 2014; Alguacil et al., 2014).

En algunas variedades de *C. annuum* se ha registrado una riqueza de HMA que varía de 9 a 17 especies (Cardona et al., 2008; Castillo et al., 2010; Chen et al., 2012; Vays y Vays et al., 2012); mientras que en *C. frutescens*, Boonlue et al. (2012) registraron 14 especies de HMA. Los géneros de HMA que se han encontrado asociados a la rizosfera de chile son: *Acaulospora*, *Glomus sensu lato* y *Scutellospora*. Sin embargo, al igual que la mayoría de los cultivos agrícolas, las especies de la familia Glomeraceae son las dominantes y frecuentes, representando más del 50 % de las especies en la comunidad (Castillo et al., 2010; Vays y Vays et al., 2012).

3.3.2. Efectos de la inoculación de HMA en *Capsicum* spp.

La selección de los HMA que aumenten el crecimiento vegetal y la resistencia a factores bióticos y abióticos es importante para desarrollar sistemas de producción agrícola sustentables (Davies et al., 2002). En diversos trabajos, donde se determinó el efecto de los HMA en chile (*Capsicum* spp), se ha demostrado que estos microorganismos promueven el crecimiento, la floración y la producción de frutos (Constantino et al., 2008; Castillo et al., 2009; Kim et al., 2010; Boonlue et al., 2012), e incrementan la resistencia de las plantas al estrés ambiental (Mena-Violante

et al., 2006; Kaya et al., 2009; Abdel et al., 2011; Cekic et al., 2012). Además, se ha reportado una gran variación en la dependencia micorrízica entre los genotipos de *C. annuum* (Sensoy et al., 2007).

En *Capsicum frutescens* y *C. chinense* se ha reportado que los HMA aumentan la floración, el crecimiento y la producción de frutos (Constantino et al., 2008; Alonzo-Contreras et al., 2012; Boonlue et al., 2012), e incrementan significativamente la absorción de Pi (Boonlue et al., 2012). En *C. annuum*, la inoculación con HMA nativos disminuyó el estrés al trasplante, aceleró la etapa de maduración de las plantas, e incrementó y mejoró la calidad de frutos un 177% más que el testigo no inoculado (Castillo et al., 2009). Aunado a esto, se encontró que los HMA tuvieron un efecto positivo sobre el contenido relativo de clorofila, el diámetro del tallo, el área foliar, el peso seco de la parte aérea y el peso seco de la raíz (Kim et al., 2010; Alonzo-Contreras et al., 2012). Sin embargo, se ha observado que diferentes genotipos de *C. annuum* responden de manera diferente a la inoculación con HMA; Sensoy et al. (2007) encontraron que sólo cinco de los ocho genotipos estudiados respondieron positivamente.

Cuando las plantas de *C. annuum* son sometidas a estrés ambiental por salinidad (Kaya et al., 2009; Cekic et al., 2012) o sequía (Mena-Violante et al., 2006), los HMA mejoraron el crecimiento vegetal, el contenido de clorofila y aumentaron el tamaño y la calidad del fruto. Además, el HMA *Funneliformis mosseae* mejoró el crecimiento de *C. annuum* en suelos contaminados con cobre (Cu), al aumentar la biomasa de las plantas, así como los contenidos de clorofila y de proteína total, y las concentraciones de P, K, Ca, y Mg. Aunado a esto, los HMA estimularon la tasa de peroxidación lipídica y la actividad de la superóxido dismutasa, catalasa, peroxidasa de ascorbato y glutatión reductasa, disminuyendo el daño oxidativo a lípidos causado por el Cu (Abdel et al., 2011).

Es indispensable hacer estudios ecológicos que muestren el efecto del manejo

agronómico sobre las comunidades de HMA. También es importante caracterizar y propagar HMA, para evaluar su efectividad después de inocularlos en las plantas de interés; esto permitirá seleccionar especies o consorcios de HMA que aumenten el crecimiento vegetal, y confieran resistencia a factores bióticos y abióticos. Este conocimiento ayudará a implementar prácticas que promuevan una comunidad de HMA funcionalmente benéfica para las plantas y desarrollar agroecosistemas más sustentables y productivos. En este trabajo se generará información básica sobre la diversidad de HMA que están asociados a la rizósfera de *C. annuum*. Además, se propagarán HMA obtenidos de diferentes lugares, que se utilizarán para probar su efectividad en *C. annuum*, y se evaluará cómo es que la efectividad de los inóculos de HMA se modifica en función de su procedencia.

CAPÍTULO IV

MANEJO AGRONÓMICO Y PROPIEDADES DEL SUELO EN LA COMPOSICIÓN Y ESTRUCTURA DE LA COMUNIDAD DE HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES EN LA RIZOSFERA DE *Capsicum annuum* L. *

RESUMEN

En este trabajo se investigó el efecto del manejo agronómico y propiedades del suelo en la composición y la estructura de la comunidad de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en la rizosfera de *Capsicum annuum* en condiciones de campo, de seis agroecosistemas de Puebla (México). Los seis agroecosistemas presentaron diferente manejo agronómico: San Martinito (SM) con poco manejo, b) Santa María Zacatepec (SMZ), Juárez Coronaco I y II (JCI y JCII) con manejo moderado, y c) San Mateo Capultitlán I y II (SMCI y SMCII) con manejo intenso. Hubo diferencias significativas ($P \leq 0.01$) en las variables del suelo y en el número de esporas de HMA entre los agroecosistemas de muestreo; se identificaron 33 morfoespecies (11 géneros y siete familias). El manejo agrícola afectó negativamente la composición y la estructura de la comunidad de HMA. Los agroecosistemas con manejo agronómico intenso y moderado (SMCI y JCII) presentaron 35% menos morfoespecies con respecto al agroecosistema con poco manejo (SM). La comunidad de HMA más diversa y equitativa ($P \leq 0.01$) se registró en los agroecosistemas con manejo agronómico moderado (SMZ) y bajo (SM). *Funneliformis geosporum*, *Claroideoglossum claroideum* y *C. luteum* fueron las especies dominantes. La similitud en la composición de la comunidad de HMA entre los agroecosistemas fue alta ($> 75\%$), sugiriendo que aquellos agroecosistemas con poco y moderado manejo agronómico difieren de aquellos con manejo intenso debido a la pérdida de especies de HMA. El P-asimilable y el pH del suelo afectaron negativamente la distribución y la abundancia de las especies de HMA.

Palabras clave: Glomeromycota, riqueza de especies, fósforo, pH, chile, estudio de campo

* Este capítulo se publicó en la revista Agriculture, Ecosystems & Environment. Anexo 1.

CHAPTER IV

AGRONOMICAL MANAGEMENT AND SOIL PROPERTIES ON THE COMPOSITION AND STRUCTURE OF COMMUNITY OF ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI IN THE RIZOSPHERE OF *Capsicum annuum* L.

ABSTRACT

This research investigated the influence of agronomical management and soil properties on the structure of the community of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) in the rhizosphere of *Capsicum annuum* at field conditions of six locations of Puebla (Mexico). Agronomical management was different in the six locations: San Martinito (SM) with low management, b) Santa Maria Zacatepec (SMZ), Juarez Coronaco I and II (JCI and JCII) with moderate management, and c) San Mateo Capultitlán I and II (SMCI and SMCII) with high management. There were significant differences ($P \leq 0.01$) in both soil parameters and the number of AMF spores among sampled locations; 33 AMF-morphotypes were identified (11 genera and siete families). The agricultural management negatively affected composition and structure of the community of AMF. Locations with high or moderate agricultural management (SMCI and JCII) showed 35% less AMF-morphospecies when compared to the location with low management (SM). The most diverse and even AMF community ($P \leq 0.01$) was recorded in locations with either moderate (SMZ) or low (SM) agricultural management. *Funneliformis geosporum*, *Claroideoglossum claroideum* and *C. luteum* were the dominant species. The similitude in the composition of AMF-community among locations was high (>75%), suggesting that those locations with low or moderate agricultural management differ from those with high management due to the loss of AMF species. Both P-available and soil pH negatively affected the distribution and abundance of the AMF species.

Key words: Glomeromycota, species richness, phosphorus, pH, pepper, field conditions

4.1. INTRODUCCIÓN

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) son un componente esencial para el funcionamiento y la sustentabilidad de los agroecosistemas (Parniske, 2008; Verbruggen y Kiers, 2010), y la mayoría de los cultivos agrícolas forman simbiosis con los HMA (Brundrett, 2009; Kivlin et al., 2011; Alarcón et al., 2012). La composición de especies y la diversidad de estos hongos pueden ser decisivas para el crecimiento y la productividad vegetal (Klironomos, 2003; Oehl et al., 2010; Verbruggen y Kiers, 2010; Koch et al., 2012; Verbruggen et al., 2012).

Varios estudios indican que la actividad, la dinámica, la composición y la diversidad de las comunidades de HMA, y su asociación con las plantas, son afectadas por factores bióticos y abióticos (Hokesama et al., 2010; Kivlin et al., 2011; Alguacil et al., 2014), destacando las características del suelo y la intensidad del manejo agrícola (Oehl et al., 2004, 2009, 2010; Castillo et al., 2010; Alguacil et al., 2014; Jansa, et al., 2014). Por ejemplo, el uso de abundantes insumos agrícolas, y el manejo agronómico en el suelo, disminuyen significativamente la riqueza de especies de HMA en fincas de café, huertos de aguacate y cultivos de maíz (Oehl et al., 2004, 2010; Trejo et al., 2011; Arias et al., 2012; Verbruggen et al., 2012; González-Cortes et al., 2012; Alguacil et al., 2014). Además, uno de los efectos más importantes que tiene el manejo agrícola sobre la comunidad de HMA es el aumento de la abundancia de especies de la familia Glomeraceae (Oehl et al., 2010; Verbruggen et al., 2012), y la disminución de especies de HMA consideradas como especialistas de nichos específicos (González-Cortes et al., 2012; Öpik y Moora, 2012; Verbruggen et al., 2012).

Las características del suelo como el pH y el contenido de materia orgánica aumentan el número de esporas y el porcentaje de colonización de HMA (Cardona et al., 2008; Vays y Vays, 2012; Alguacil et al., 2014). En contraste, el contenido y la disponibilidad de fósforo afectan negativamente la composición, distribución y diversidad de la comunidad de HMA (Oehl et al.,

2010; Bainard et al., 2014; Jansa et al., 2014). La humedad, la textura y los cambios en las propiedades químicas del suelo originadas por el pH son factores que pueden o no afectar la distribución y composición de los HMA en ecosistemas naturales y agrícolas (Hijri et al., 2006; Kivlin et al., 2011; Bainard et al., 2014; Jansa et al., 2014).

El chile (*Capsicum annuum*) es una de las hortalizas más importantes en la dieta de Mesoamérica y en muchas partes del mundo (Piñeiro et al., 2008); en México, se ha domesticado en diversos lugares y de distintas formas, por lo que se le considera el centro de origen (Piñeiro et al., 2008; Contreras et al., 2011; Castellón-Martínez et al., 2012). El chile “poblano” es una de las variedades de *C. annuum* económicamente más importantes por la superficie sembrada y por el consumo de la población (Rodríguez et al., 2007); además, tiene relevancia alimenticia y cultural por ser un ingrediente básico de la gastronomía mexicana (Rodríguez et al., 2007; Contreras et al., 2011), posee alto contenido nutricional, y es fuente de vitaminas A, E, B y C (Rodríguez et al., 2007; Morán-Bañuelos et al., 2008). A pesar de la importancia del chile en México, y de que se sabe que este grupo de plantas se encuentra asociado a HMA, mismos que favorecen su supervivencia, se desconoce la composición y diversidad de éstos hongos en dicho cultivo. Los estudios de HMA en esta hortaliza, se han enfocado a determinar la respuesta de la planta a su inoculación (Sensoy et al., 2007; Kaya et al., 2009; Kim et al., 2010; Douds et al., 2012), sin considerar la procedencia e identidad del hongo.

En el cultivo de chile no hay estudios que muestren el efecto de la intensificación agrícola y de las características del suelo sobre la composición y estructura de la comunidad de los HMA. No obstante, en *C. annuum* y *C. frutescens* se ha registrado una riqueza de HMA que varía de 9 a 17 especies, donde las especies del género *Glomus sensu lato* representan 50% o más, de dominancia y frecuencia (Cardona et al., 2008; Castillo et al., 2010; Boonlue et al. 2012; Chen et al., 2012; Vays y Vays, 2012).

Es importante entender como el manejo agrícola y las características del suelo influyen en las comunidades microbianas, especialmente en grupos funcionalmente importantes como los HMA. Este conocimiento permitirá a los productores implementar prácticas que promuevan una comunidad de HMA funcionalmente benéfica para las plantas y desarrollar agroecosistemas más sustentables y productivos (Bainard et al., 2014; Alguacil et al., 2014). Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue conocer el efecto del manejo agronómico y las propiedades del suelo en la composición y estructura de la comunidad de los HMA en la rizosfera de *Capsicum annuum*.

4.2. MATERIALES Y MÉTODOS

4.2.1. Región de estudio y agroecosistemas de muestreo

Se muestrearon seis agroecosistemas de chile poblano (*C. annuum*) ubicados en tres municipios de la región de San Pedro Cholula, Puebla (Figura 4.1), que corresponden a zonas de mayor producción de este tipo de chile por agricultores locales. El clima que predomina en la región es templado subhúmedo con lluvias en verano. La mayor parte de dicha región está constituida por zonas agrícolas de temporal con cultivos anuales y perennes, así como pequeñas zonas de pastizal inducido y bosques de pino-encino (INEGI, 1997).

La caracterización agronómica de los seis agroecosistemas de muestreo se hizo mediante una encuesta a los dueños de cada agroecosistema. Con los datos recabados, se realizó un análisis de agrupamiento (dendograma mediante el índice de Sorensen) basado en la similitud del manejo y los productos que aplican. El resultado de este análisis aglomeró a los agroecosistemas en tres grupos: a) San Martinito (SM) con poc manejo agronómico, b) Santa María Zacatepec (SMZ), Juárez Coronaco I y II (JCI y JCII) con manejo agronómico moderado, y c) San Mateo Capultitlán I y II (SMCI y SMCII) con manejo agronómico intenso (Tabla 4.1).

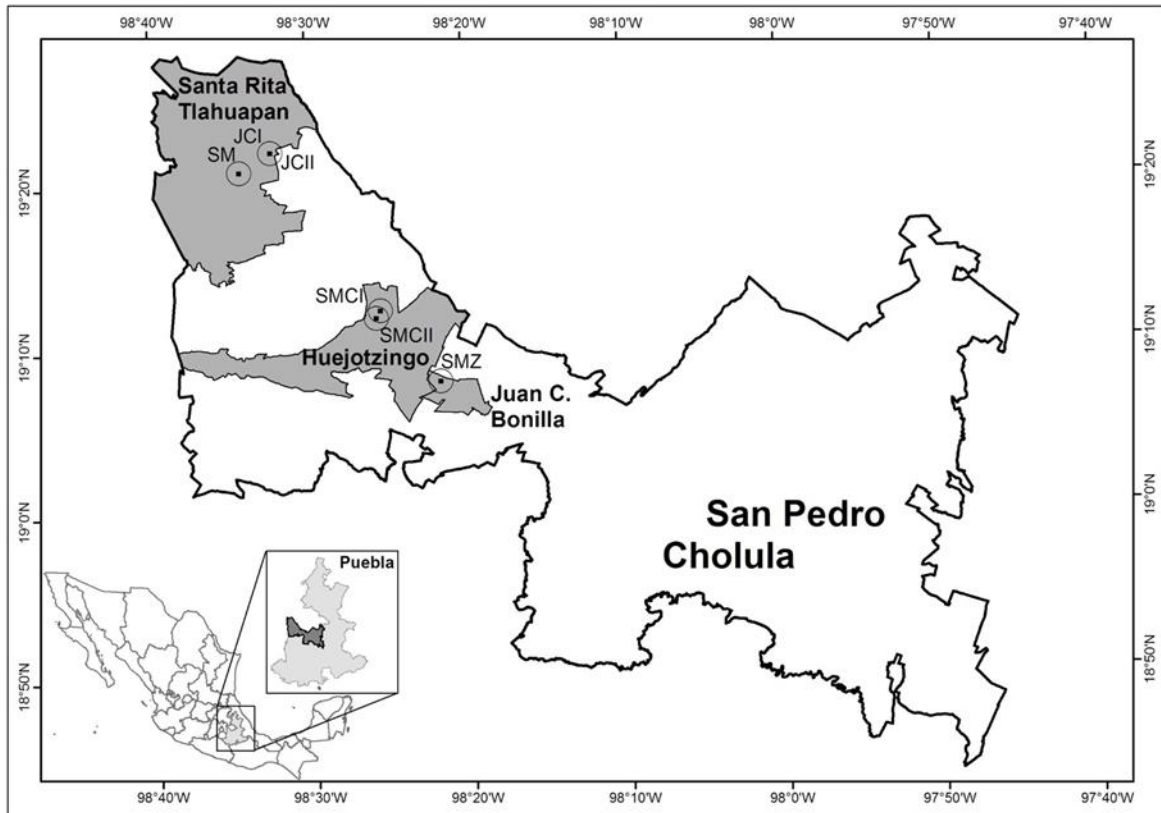


Figura 4.1. Localización del área de estudio y los agroecosistemas de muestreo. SM= San Martinito, JCI y JCII= Juárez Coronaco I y II, SMZ= Santa María Zacatepec, SMCI y SMCII= San Mateo Capultitlán I y II.

4.2.2. Recolección de muestras de suelo

En cada agroecosistema de estudio, se tomaron muestras de suelo rizosférico de cinco plantas de chile poblano, en etapa de fructificación, para un total de 30 unidades experimentales (plantas). De cada planta se recolectó una submuestra de 500 g de suelo en cada orientación cardinal, a una profundidad de 20 cm (Robles et al., 2008). Las submuestras se mezclaron para obtener una muestra compuesta por planta. Una parte de las muestras fue almacenada en bolsas de polietileno y refrigerada (4-6 °C) para el análisis de las comunidades de HMA. La otra parte del suelo fue secada al aire y tamizada (2 mm) para su caracterización física y química.

Tabla 4.1. Descripción de los agroecosistemas de estudio donde se cultiva chile poblano (*C. annuum*), en el estado de Puebla.

Municipio	Agroecosistema de muestreo	Localización	Altitud	Prácticas de manejo
Santa Rita Tlahuapa	San Martinito (SM)	19°21.03' N 98°33.98' W	2548	Poco manejo: aplicación de Urea y 18:46 como fertilizantes una o dos veces, deshierbe manual, uso de insecticida y fungicida una vez, y aplicación de abono orgánico dos veces.
	Juárez Coronaco I (JCI)	19°22.24' N 98°31.97' W	2441	Manejo moderado: aplicación de Urea, 18:46 y triple 17 como fertilizantes tres veces, deshierbe manual, uso de insecticida, nematicida y fungicida dos veces y aplicación de abono orgánico una vez.
	Juárez Coronaco II (JCII)	19°22.23' N 98°32.08' W	2458	
Juan C. Bonilla	Santa María Zacatepec (SMZ)	19°07.93' N 98°21.34' W	2233	
Huejotzingo	San Mateo Capultitlán I (SMCI)	19°12.29' N 98°25.52' W	2287	Manejo intenso: aplicación de Urea, 18:46 y triple 17 como fertilizante cuatro o cinco veces, deshierbe manual, uso de insecticida, nematicida, herbicidas y fungicida tres veces y aplicación de abono orgánico una vez
	San Mateo Capultitlán II (SMCII)	19°12.02' N 98°25.69' W	2289	

4.2.3. Análisis físico y químico del suelo

En cada muestra de suelo se determinaron los siguientes parámetros: pH (potenciometría, en relación agua:suelo 2.5:1), textura (densímetro de Bouyoucos), conductividad eléctrica (extracto de saturación, lectura en puente de Wheatstone), materia orgánica (digestión húmeda de Walkley-Black), fósforo extraíble (extracción Bray y Kurtz, determinación espectrofotométrica), y nitrógeno inorgánico (extracción con KCl, destilación microKjeldahl) (SEMARNAT, 2002).

4.2.4. Extracción, conteo y determinación taxonómica de esporas

Las esporas de HMA se extrajeron de las muestras de suelo por el método de tamizado húmedo y decantación (Gerdeman y Nicolson, 1963), seguido de centrifugación con gradiente de sacarosa al 20 y 60% (Sieverding, 1983). Las esporas se separaron de acuerdo con su morfología bajo microscopio estereoscópico, y se colocaron en preparaciones con PVLG+Reactivo de Melzer, previo registro de su coloración natural. Sólo las esporas que estaban intactas y saludables se contaron y revisaron bajo microscopio óptico con contraste de interferencia de Nomarski (Nikon Optiphot II Plus) con reglilla micrométrica acoplada al ocular. La identificación de las morfoespecies, se realizó con base en las descripciones especializadas de las diferentes especies y con la información de la International Collection of Vesicular and Arbuscular Mycorrhizal Fungi (INVAM) (<http://invam.wve.edu/>), y de la página electrónica de Janusz Blazkowski taxónomo de Glomeromycota (<http://www.zor.zut.edu.pl/Glomeromycota/>). El arreglo taxonómico de las morfoespecies se hizo con base en la clasificación de Schüßler y Walker (2010).

4.2.5 Análisis ecológicos y estadísticos

Para determinar si el número de muestras de suelo recolectadas representaban satisfactoriamente la composición de la comunidad de HMA se hicieron curvas de acumulación de especies. Las curvas se obtuvieron mediante una matriz de presencia-ausencia de las especies, la

cual se aleatorizó 100 veces para eliminar el efecto por la secuencia en que ingresan los datos en la construcción de las curvas, con el programa EstimateS versión 9.0.0 (Díaz-Francés y Soberón, 2005). Las curvas de acumulación se construyeron con el programa Species Accumulation con el modelo asintótico de Clench recomendado para grupos poco conocidos. El modelo está representado por la siguiente ecuación: $S(t) = a * t / (1 + b * t)$, donde $S(t)$ es el cambio en la riqueza específica conforme al esfuerzo de colecta, t es el esfuerzo de colecta, a es la ordenada al origen que representa la tasa de incremento de las especies al inicio del muestreo, y b es la pendiente de la curva y representa la acumulación de las especies. El número máximo estimado de especies se obtuvo dividiendo a/b . Para tener una idea de la calidad del inventario, se calculó el porcentaje estimado de especies mediante la siguiente ecuación: especies observadas (Sobs)/(a/b) (Jiménez-Valverde y Hortal, 2000).

Así mismo, se determinaron la abundancia de esporas, la riqueza de especies, la abundancia relativa y la frecuencia de aislamiento (Dandan y Ziwey, 2007). La estructura de la comunidad de HMA se describió mediante el índice de equidad de Pieolou, el índice de dominancia-diversidad de Simpson y el índice de diversidad de Shannon-Wiener, utilizando la prueba t de Student modificada por Hutchinson para definir diferencias en los valores de diversidad entre los agroecosistemas de estudio. El coeficiente de Sorensen se usó para conocer la similitud que existe entre los agroecosistemas de estudio con base en la composición de especies de HMA de cada comunidad (diversidad beta) (Magurran, 1989).

Para saber si existían diferencias significativas entre los agroecosistemas de estudio en las variables biológicas y edafológicas estudiadas, se hizo análisis de varianza. Cuando hubo diferencias significativas, los valores promedio se contrastaron mediante la prueba de Tukey ($P \leq 0.01$). La relación entre la distribución y la abundancia de especies de HMA, y las propiedades del suelo se determinó mediante un análisis de correspondencia canónica.

Todos los análisis se hicieron con el paquete estadístico STATISTICA versión 9.0. Previo al análisis, los datos del número de esporas se transformaron aplicándoles la función \log_{10} , para ajustarlos a la distribución normal. El análisis de varianza y la comparación de medias se hicieron con los datos transformados, pero los resultados se muestran en las unidades originales para una mejor comprensión.

4.3. RESULTADOS

4.3.1. Propiedades físicas y químicas del suelo

Las variables del suelo mostraron diferencias significativas ($P \leq 0.01$) entre los agroecosistemas de muestreo. Los valores de pH van de moderadamente ácidos (SM y JCII) a neutros (SMCI y SMCII); el contenido de materia orgánica fue mayor en el agroecosistema con poco manejo agrícola (SM), mientras que los agroecosistemas con manejo intenso (SMCI y SMCII) mostraron alto contenido de fósforo asimilable. En general, los suelos de los seis agroecosistemas presentaron baja conductividad eléctrica, muy bajo contenido de nitrógeno aprovechable y textura de franco-arenosa (SMZ, SMCI, y SMCII) a franco-arcillo-arenosa (SM y JCI) (Tabla 4.2).

4.3.2. Composición de la comunidad de HMA y curvas de acumulación de especies

Se identificaron 33 especies de HMA en la rizosfera de chile poblano pertenecientes a 11 géneros y siete familias (Tabla 4.3). La familia Glomeraceae presentó el mayor número de especies (39% del total), seguida de Acaulosporaceae y Gigasporaceae (25% y 12% respectivamente). Las 33 especies de HMA registradas, representan el 94% del máximo estimado por el modelo asintótico de acumulación de especies de Clench ($r^2 = 0.98$) (Figura 4.2). La asíntota prevista por el modelo fue de 35 especies [tasa de incremento de nuevas especies al comienzo del inventario ($a = 12.64$) y parámetro relacionado con la forma de la curva ($b = 0.36$), asíntota = a/b].

Tabla 4.2. Caracterización física y química de suelo rizosférico de los seis agroecosistemas donde se cultiva chile poblano, en el estado de Puebla.

AG	pH	CE (dS m ⁻¹)	MO (%)	N-NH ₄ ⁺ (mg kg ⁻¹)	N-NO ₃ ⁻ (mg kg ⁻¹)	N-inorgánico (mg kg ⁻¹)	P-asimilable (mg kg ⁻¹)	P-total (mg kg ⁻¹)	Textura
SM	5.7±0.05d	0.40±0.05a	0.31±0.04 a	16.84±1.64 a	5.92±1.16 a	22.76±1.91 a	22.28±2.02 b	390.76±12.2 ab	FAA
JCI	6.7±0.16b	0.14±0.02bc	0.11±0.01 bc	1.46±0.41 c	1.12±0.35 c	2.58±0.68 d	50.30±3.14 ab	453.02±27.8 a	FAA
JCII	6.2±0.04c	0.11±0.01c	0.08±0.01 c	1.48±0.23 c	1.02±0.31 c	2.50±0.41 d	33.24±5.43 b	285.34±19.3 b	FA
SMZ	6.6± 0.09b	0.15±0.01bc	0.12±0.01 bc	3.51±0.72 bc	2.10±0.53 bc	5.61±0.85 cd	26.12±4.49 b	369.98±12.7 ab	FA
SMCI	7.4±0.05a	0.33±0.05a	0.26±0.04 a	5.44±0.95 b	4.38±0.52 ab	9.82±1.19 bc	48.99±5.39 ab	393.92±26.4 ab	FA
SMCII	7.2±0.06a	0.27±0.02ab	0.21±0.02 ab	7.30±0.52 b	3.58±0.82 abc	10.88±0.66 b	71.99±16.01 a	369.98±45.1 ab	FA

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey, $\alpha=0.05$). Media \pm el error estándar (n=5). Simbología: AG= agroecosistema, SM= San Martinito, JCI y JCII= Juárez Coronaco I y II, SMZ= Santa María Zacatepec SMCI y SMCII= San Mateo Capultitlán I y II. CE = conductividad eléctrica, MO = materia orgánica. FAA= franco-arcillo-arenoso, FA= franco-arenoso

4.3.3. Efecto del manejo agronómico en la composición y la estructura de la comunidad de HMA

La composición de la comunidad de HMA de los agroecosistemas con poco y moderado manejo difiere de aquellos con manejo intenso (Tabla 4.3, Figura 4.3). No se encontraron especies de *Scutellospora* en los agroecosistemas con manejo intenso (SMCI y SMCII). *Acaulospora colombiana*, *Glomus* aff. *microcarpum*, *Glomus* sp. 2, y *Glomus* sp. 3, se observaron exclusivamente en estos dos agroecosistemas (Tabla 4.3). Al comparar la composición de la comunidad de HMA, mediante el coeficiente de Sorensen, se observó

alta similitud entre los agroecosistemas con poco y moderado manejo (SM, SMZ y JCI). En contraste, los dos agroecosistemas con manejo intenso (SMCI y SMCII) se unieron en diferente grupo (Figura 4.3).

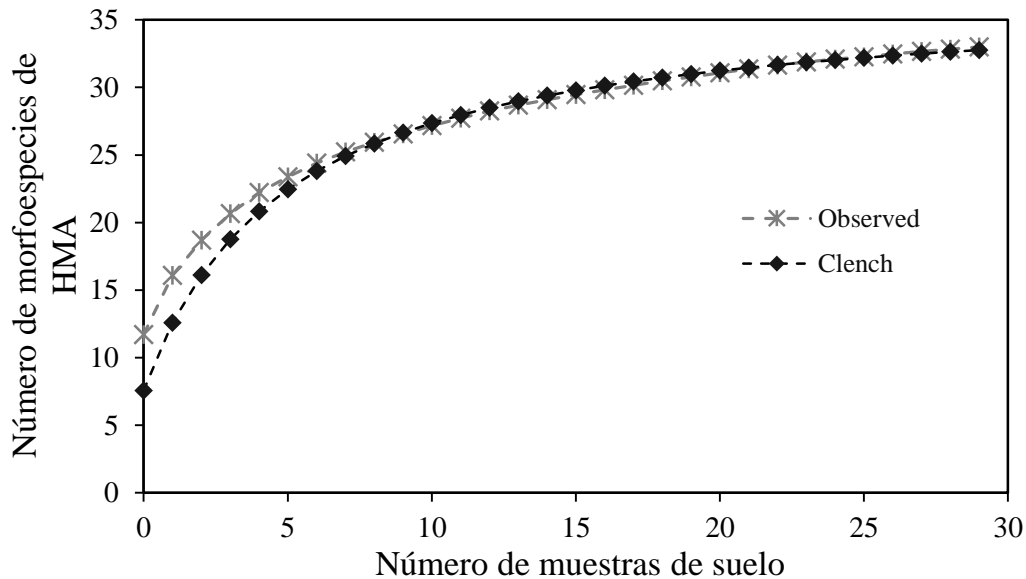


Figura 4.2. Curvas de acumulación de especies observadas y estimadas por el modelo asintótico de Clench en la rizosfera de *Capsicum annuum*.

En general, el tipo de manejo no afectó la riqueza de especies de HMA. Los agroecosistemas con manejo intenso (SMCI y SMCII) y moderado (SMZ, JCI y JCII) tuvieron 24 especies; mientras que SM (poco manejo) tuvo 23 especies. Sin embargo, a escala individual, los agroecosistemas SMCI y JCII, con manejo intenso y moderado respectivamente, mostraron 35% menos morfoespecies de HMA que el agroecosistema con poco manejo (SM). Diez de las 33 morfoespecies de HMA se registraron en todos los agroecosistemas de muestreo. Por el contrario, *Acaulospora splendida*, *E. infrequens*, *P. coralloidea*, *P. aff. franciscana* y *G. minutum*, sólo se registraon en JCI (moderado manejo). *Acaulospora colombiana* sólo se observó en SMCII (manejo intenso), y *A. bireticulata* sólo se registró en SM (poco manejo) (Tabla 4.3).

Tabla 4.3. Morfoespecies de hongos micorrízicos arbusculares en suelo rizosférico de “chile poblano” recolectados en seis agroecosistemas en el estado de Puebla.

Morfoespecie de HMA	Agroecosistemas muestreados					
	Poco manejo		Manejo moderado		Manejo intenso	
	SM	JCI	JCII	SMZ	SMCI	SMCII
DIVERSISPORALES						
Acaulosporaceae						
<i>Acaulospora bireticulata</i> Rothwell & Trappe	X					
<i>Acaulospora colombiana</i> (Spain & Schenck) Kaonongbua, Morton & Bever						X
<i>Acaulospora laevis</i> Gerd. & Trappe	X	X		X	X	X
<i>Acaulospora mellea</i> Spain & Schenck	X					X
<i>Acaulospora morrowiae</i> Spain & Schenck	X	X	X	X	X	X
<i>Acaulospora scrobiculata</i> Trappe				X	X	X
<i>Acaulospora spinosa</i> Walker & Trappe	X			X		X
<i>Acaulospora splendida</i> Sieverd., Chaverri & Rojas		X				
Diversisporaceae						
<i>Diversispora aurantia</i> (Błaszk., Blanke, Renker & Buscot) Walker & Schuessler	X	X	X	X	X	X
<i>Diversispora spurca</i> (Pfeiff, Walker & Bloss) Walker & Schuessler	X		X			
Entrophosporaceae						
<i>Entrophospora infrequens</i> (Hall) Ames & Schneider		X				
Gigasporaceae						
<i>Gigaspora candida</i> Bhattacharjee, Mukerji, Tewari & Skoropad	X	X	X	X		X
<i>Gigaspora margarita</i> Becker & Hall	X					X
<i>Scutellospora dipurpurascens</i> Morton & Koske	X	X	X			
<i>Scutellospora pellucida</i> (Nicol. & Schenck) Walker & Sanders	X	X	X	X		

Pacisporaceae

<i>Pacispora coralloidea</i> Oehl & Sieverd.						X
<i>Pacispora</i> aff. <i>franciscana</i> Oehl & Sieverd.						X

GLOMERALES

Claroideoglomeraceae

<i>Claroideoglomus claroideum</i> (Schenck & Smith) Walker & Schuessler	X	X	X	X	X	X
<i>Claroideoglomus luteum</i> (Kenn., Stutz & Morton) Walker & Schuessler	X	X	X	X	X	X
<i>Claroideoglomus</i> sp.1	X	X	X	X		X

Glomeraceae

<i>Funneliformis constrictum</i> Sieverd., Silva & Oehl	X					X
<i>Funneliformis geosporum</i> (Nicolson & Gerd.) Walker & Schuessler	X	X	X	X	X	X
<i>Funneliformis mosseae</i> (Nicol. & Gerd.) Walker & Schuessler	X	X	X	X	X	X
<i>Funneliformis</i> sp. 1	X	X	X	X	X	X
<i>Glomus</i> aff. <i>microcarpum</i> Tulasne & Tulasne					X	X
<i>Glomus minutum</i> Błaszk., Tadych & Madej		X				
<i>Glomus</i> sp. 1	X	X	X	X	X	X
<i>Glomus</i> sp. 2						X
<i>Glomus</i> sp. 3					X	X
<i>Glomus</i> sp. 4	X		X	X		X
<i>Glomus</i> sp. 5	X				X	X
<i>Rhizophagus fasciculatus</i> (Thaxt.) Walker & Schuessler	X	X	X	X	X	X
<i>Sclerocystis sinousa</i> Gerd. & Bakshi	X	X	X	X	X	X
Número total de morfoespecies	23	20	16	17	15	24
Número total de esporas (50 g de suelo seco ⁻¹)*	67abc	98a b	53bc	30c	111ab	153a

*Medias con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey, $\alpha=0.05$). Media \pm el error estándar (n=5). Simbología: SM=

San Martinito, JCI y JCII= Juárez Coronaco I y II, SMZ= Santa María Zacatepec, SMCI y SMCII= San Mateo Capultitlán I y II.

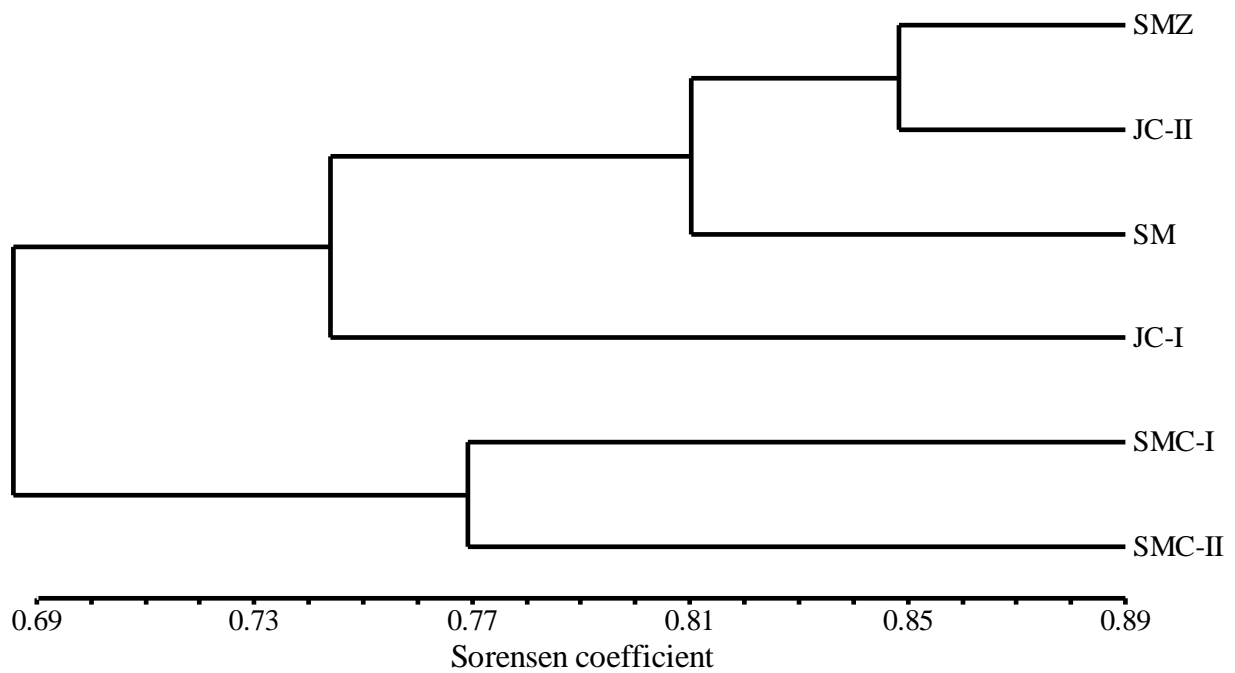


Figura 4.3. Dendrograma que muestra la similitud en la composición de especies de hongos micorrízicos arbusculares entre los sistemas de producción de *Capsicum annuum*, del estado de Puebla (México). SM= San Martinito, JCI y JCII= Juárez Coronaco I y II, SMZ= Santa María Zacatepec, SMC I y SMCII= San Mateo Capultitlán I y II.

La intensidad del manejo agrícola, favoreció la abundancia de esporas de especies de la familia Glomeraceae, siendo *Funneliformis geosporum*, *Claroideoglossum claroideum* y *C. luteum* las especies más abundantes y frecuentes. En contraste, se encontraron muchas especies poco frecuentes y con baja abundancia relativa (Tabla 4.4). La intensidad del manejo agrícola afectó negativamente la estructura de la comunidad. Las comunidades de HMA más diversas y equitativas se registraron en los agroecosistemas con manejo agronómico moderado (SMZ) y poco manejo (SM), y fueron significativamente diferentes ($P \leq 0.01$) a la registrada en uno de los agroecosistemas con manejo agronómico intenso (SMC I). La mayor dominancia se registró en los agroecosistemas con manejo intenso, y la menor en el agroecosistema SMZ con manejo moderado (Tabla 4.5).

Tabla 4.4. Número de esporas, abundancia relativa y frecuencia de aislamiento de morfoespecies de HMA presentes en la rizósfera de chile poblano, en el estado de Puebla.

Especie de HMA	Número de esporas	Abundancia relativa (%)	Frecuencia de aislamiento (%)
<i>Acaulospora</i>	87	3.22	70.00
<i>A. bireticulata</i>	3	0.11	3.33
<i>A. colombiana</i>	2	0.07	3.33
<i>A. laevis</i>	31	1.15	36.67
<i>A. mellea</i>	2	0.07	6.67
<i>A. morrowiae</i>	21	0.78	36.67
<i>A. scrobiculata</i>	18	0.67	26.67
<i>A. spinosa</i>	5	0.19	10.00
<i>A. splendeida</i>	5	0.19	6.67
<i>Claroideoglo mus</i>	806	29.86	100.00
<i>C. claroideum</i>	236	8.74	100.00
<i>C. luteum</i>	529	19.60	90.00
<i>Claroideoglo mus</i> sp.1	41	1.52	56.67
<i>Diversipora</i>	468	17.34	86.67
<i>D. aurantia</i>	464	17.19	83.33
<i>D. spurca</i>	4	0.15	6.67
<i>Entrophospora</i>	2	0.07	3.33
<i>E. infrequens</i>	2	0.07	3.33
<i>Funneliformis</i>	883	32.72	100.00
<i>F. constrictum</i>	2	0.07	6.67
<i>F. geosporum</i>	508	18.82	100.00
<i>F. mosseae</i>	250	9.26	93.33
<i>Funneliformis</i> sp. 1	125	4.63	73.33
<i>Gigaspora</i>	28	1.04	36.67
<i>G. candida</i>	22	0.82	36.67
<i>G. margarita</i>	6	0.22	10.00
<i>Glomus</i>	200	7.41	86.67
<i>G. microcarpum</i>	11	0.41	10.00
<i>G. minutum</i>	6	0.22	3.33
<i>Glomus</i> sp. 1	109	4.04	63.33
<i>Glomus</i> sp. 2	21	0.78	13.33
<i>Glomus</i> sp. 3	12	0.44	23.33
<i>Glomus</i> sp. 4	8	0.30	20.00
<i>Glomus</i> sp. 5	33	1.22	33.33
<i>Pacispora</i>	12	0.44	16.67
<i>P. coralloidea</i>	12	0.44	16.67
<i>P. aff. franciscana</i>	2	0.07	3.33
<i>Rhizophagus</i>	109	4.04	83.33
<i>R. fasciculatus</i>	109	4.04	83.33
<i>Sclerocystis</i>	57	2.11	56.66

<i>S. sinouza</i>	54	2.00	56.66
<i>Scutellospora</i>	47	1.74	46.67
<i>S. dipurpurascens</i>	27	1.00	36.67
<i>S. pellucida</i>	20	0.74	33.33

Tabla 4.5. Medidas de diversidad de hongos micorrízicos arbusculares en seis agroecosistemas de “chile poblano” en el estado de Puebla.

Parámetros ecológicos	Agroecosistemas muestreados					
	Poco manejo		Manejo moderado		Manejo intenso	
	SM	JCI	JCII	SMZ	SMCI	SMCII
Riqueza	23	20	16	17	15	24
Diversidad máxima	3.13	2.99	2.77	2.83	2.70	3.18
Índice de diversidad de Shannon-Wiener*	2.49 a	2.46 a	2.11 b	2.52 a	1.90 c	2.13 b
Índice de dominancia de Simpson	0.11	0.11	0.16	0.09	0.19	0.18
Índice de equidad de Pieolou	0.79	0.82	0.76	0.89	0.70	0.67

* Valores con la misma letra en la misma línea no difieren significativamente (t-student, $\alpha=0.05$, modificada por Hutchinson). Simbología: SM= San Martinito; JCI y JCII= Juárez Coronaco I y II; SMZ= Santa María Zacatepec; SMCI y SMCII= San Mateo Capultitlán I y II.

4.3.4. Efecto de las propiedades del suelo en la distribución y abundancia de los HMA

El análisis de correspondencia canónica, indicó que la distribución y abundancia de las especies de HMA están relacionadas con las propiedades químicas del suelo. *Funneliformis geosporum*, *Acaulospora colombiana*, *A. laevis* y *A. morrowiae* se agruparon a lo largo del vector P-asimilable en el primer eje, particularmente en el agroecosistema SMCII, donde el contenido de P-asimilable es alto. Sin embargo, la mayor cantidad de especies se distribuyó en posición inversa a este vector, es decir, en los agroecosistemas donde el contenido de P-asimilable es bajo. Por otro lado, *Claroideoglossum luteum*, *Funneliformis* sp. 1 y *Glomus* sp. 1, se agruparon en el segundo eje, relacionado con el pH, particularmente con el agroecosistema SMCI que presentó los valores de pH más altos (Figura 4.4).

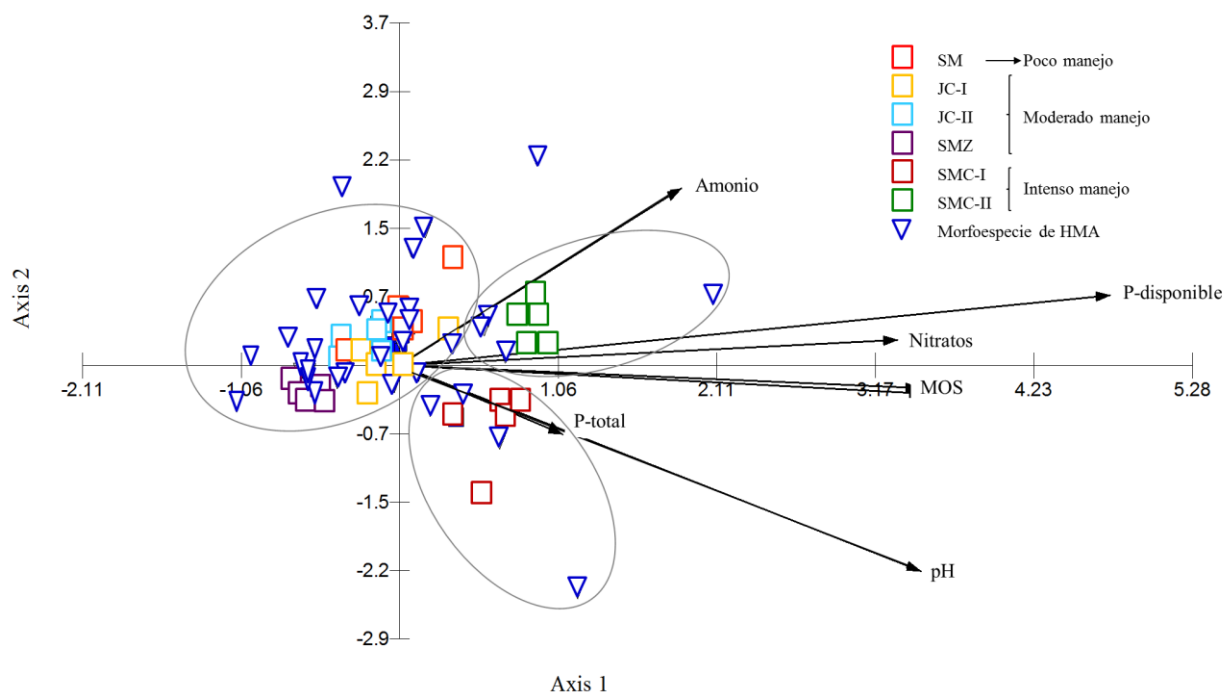


Figura 4.4. Diagrama de ordenación que muestra el efecto de las propiedades del suelo en la distribución de las morfoespecies de HMA en los agroecosistemas de muestreo de *Capsicum annuum*. JCI y JCII= Juárez Coronaco I y II, SM= San Martinito, SMCI y SMCII= San Mateo Capultitlán I y II, SMZ= Santa María Zacatepec, MO= materia orgánica.

4.5. DISCUSIÓN

Los suelos de los agroecosistemas son de baja conductividad eléctrica, bajo contenido de materia orgánica, concentración muy baja de nitrógeno, y contenido de fósforo asimilable de medio a alto (SEMARNAT, 2002). Estas características, son consecuencia del manejo agronómico que se da al cultivo de chile en los agroecosistemas de muestreo. En los agroecosistemas con manejo agronómico intenso (SMC I y II), donde la fertilización es más intensa y frecuente, el contenido de fósforo asimilable fue alto. Al respecto, la aplicación intensa de agroquímicos en los sistemas de producción de chile poblano puede afectar la distribución y la abundancia de HMA, y la simbiosis con las plantas (Castillo et al., 2010; Oehl et al., 2004, 2010).

Existen pocos reportes en los que se determina la eficiencia del muestreo para conocer la composición de especies de HMA en ecosistemas agrícolas y naturales. No obstante, hay indicadores como las curvas de acumulación de especies, que valoran la calidad de los inventarios y permiten hacer aproximaciones del número real de especies presentes en los ecosistemas (Soberón y Llorente, 1996; Jiménez-Valverde y Hortal, 2000). El modelo asintótico de acumulación de especies de Clench indica que el inventario de morfoespecies de HMA obtenido es bastante completo y altamente confiable. El porcentaje de morfoespecies de HMA encontrado en el presente estudio (94% con respecto al máximo estimado) es más alto que lo reportado para otras especies vegetales, ecosistemas y agroecosistemas, en los que se ha valorado, como en *Agave potatorum* (Carballar-Hernández et al., 2013) en Oaxaca, México, en zonas semiáridas del Sureste de China (Dandan y Zhiwey, 2007), y en suelos agrícolas con diferente intensidad de manejo (Hijri et al., 2006).

La riqueza de especies es un parámetro importante para proponer estrategias de conservación y aprovechamiento en los ecosistemas (Coleman y Whitman, 2005; Mace et al., 2012; Verbruggen et al., 2012). El número de morfoespecies de HMA registradas en este estudio (33 morfoespecies) es mayor que lo reportado para otras variedades de *C. annuum*, el cual varía desde nueve hasta 17 morfoespecies (Cardona et al., 2008; Castillo et al., 2010; Chen et al., 2012; Vays y Vays, 2012); además, es más alto que las 14 morfoespecies de HMA reportadas por Boonlue et al. (2012) en *C. frutescens*. En los agroecosistemas, la composición de HMA puede ser decisiva para la productividad de los cultivos, debido a que estos hongos varían en su capacidad para promover el crecimiento vegetal (Klironomos, 2003; Oehl et al., 2010; Verbruggen y Kiers, 2010; Koch et al., 2012; Verbruggen et al., 2012). La alta riqueza encontrada en el presente trabajo, puede indicar alta diversidad y complementariedad funcional de los HMA (Dandan y Zhiwei, 2007), lo que puede contribuir en la captura más efectiva de

nutrientes y en la atenuación de factores de estrés en las plantas de Chile, y así, favorecer su crecimiento y desarrollo.

La elevada abundancia y frecuencia de *Funneliformis geosporum*, *Claroideoglosum claroideum* y *C. luteum* puede atribuirse a que las morfoespecies de los géneros *Funneliformis* y *Claroideoglosum* tienen amplia distribución mundial (Treseder y Cross, 2006; Dandan y Zhiwei, 2007; Oehl et al., 2010; Carballar-Hernández et al., 2013), registrándose en cultivos de *C. annuum* y *C. frutescens* de Colombia, Chile, China, India, y Tailandia (Cardona et al., 2008; Castillo et al., 2010; Chen et al., 2012; Boonlue et al., 2012; Vyas y Vays, 2012). Aunado a esto, se encontró una correlación positiva y significativa ($r=0.81$, $P\leq 0.05$) entre la abundancia relativa y la frecuencia de aislamiento, lo cual indica que las morfoespecies que producen más esporas tienen distribución más amplia, en este caso, *F. geosporum*, *C. claroideum* y *C. luteum*. Estas morfoespecies son consideradas como generalistas con amplia adaptación al manejo agronómico intenso (Oehl et al., 2009, 2010; Öpik y Moora, 2012; Alguacil et al., 2014). Lo anterior concuerda con su presencia y abundancia en el manejo agronómico del cultivo de Chile poblano del presente trabajo.

Los agroecosistemas SMCI y JCII, con manejo agronómico intenso y moderado, respectivamente, presentaron 35% menos morfoespecies de HMA con respecto al agroecosistema con poco manejo (SM). La disminución de morfoespecies en los agroecosistemas con manejo agronómico intenso y moderado, concuerda con lo reportado para fincas de café (Arias et al., 2012; Trejo et al., 2011), cultivo de aguacate y maíz (González-Cortes et al., 2012), y en sitios con diferente manejo agrícola y uso de suelo (Oehl et al., 2010; Verbruggen et al., 2012). La aplicación continua de altas dosis de insumos químicos puede conducir no sólo a la pérdida de la diversidad morfológica y genética de HMA, sino también de su diversidad funcional y por lo tanto, podría disminuir la fertilidad y la calidad del suelo (Oehl et al., 2010; Alarcón et al., 2012; Alguacil et al., 2014). Sin embargo, ésta es solo una

parte del panorama, ya que no se ha precisado con claridad cómo la pérdida de la diversidad o la ausencia de morfoespecies especialistas de HMA, puede repercutir en la funcionalidad de los agroecosistemas; además, se desconoce el tiempo que tardan en reaparecer las morfoespecies especialistas después de ser sometidas a un intenso manejo del suelo, o si éstas pueden ser reintroducidas exitosamente (Oehl et al., 2009, 2010; Verbruggen et al., 2012). Por tal razón, es importante mantener la producción de los cultivos agrícolas bajo un enfoque sustentable, para mantener mayor riqueza de HMA y de morfoespecies especialistas de hábitats específicos (Verbruggen et al., 2012; Alguacil et al., 2014).

El coeficiente de Sorensen mostró que la composición de especies de las comunidades de HMA de los agroecosistemas con poco y moderado manejo (SM, SMZ y JCI) difiere de aquellos con manejo intenso (SMCI y SMCII). Por ejemplo, no se encontraron morfoespecies de *Scutellospora* en SMCI y SMCII. Por el contrario, *Acaulospora bireticulata*, *A. splendida*, *E. infrequens*, *P. coralloidea*, *P. aff. franciscana* y *G. minutum*, se registraron exclusivamente en agroecosistemas con poco y moderado manejo (SM o JCI). Esto sugiere que estas morfoespecies pueden ser especialistas bajo ciertas condiciones ecológicas, como se propone para otras morfoespecies de HMA (Oehl et al., 2010; Öpik y Moora, 2012). La presencia de estas especies, en suelos con poco o moderado manejo, ha sido reportada previamente en pastizales, cultivos agrícolas y bosques templados (Oehl et al., 2010, González-Cortes et al., 2012). Lo anterior sugiere que las especies de HMA pueden diferir en sus beneficios a las diferentes especies vegetales y, en consecuencia, en su papel dentro de los agroecosistemas.

La alta similitud encontrada entre los seis agroecosistemas (> 75%) indica cierta estabilidad del sistema, con bajo recambio de morfoespecies (diversidad beta). Esto sugiere que la mayoría de las morfoespecies de HMA identificadas tiene amplia distribución geográfica y que algunas de ellas están bien adaptadas a los disturbios agronómicos (poco o moderado manejo agronómico) (Verbruggen et al., 2010; Alguacil et al., 2014), y sólo pocas especies,

parecen estar adaptadas al intenso manejo agronómico, en este estudio, *A. colombiana*, *F. geosporum*, *Glomus* aff. *microcarpum*, *Glomus* sp. 2, y *Glomus* sp. 3.

La alta diversidad alfa y la baja diversidad beta indican que el ensamble de morfoespecies de HMA encontrado en este trabajo puede ser característico de los agroecosistemas de Chile. Sin embargo, si el cultivo de Chile sigue siendo sometido a la aplicación intensiva de insumos agrícolas, se propiciará que las morfoespecies de HMA poco tolerantes y con baja abundancia desaparezcan, mientras que las más abundantes y tolerantes dominarán el agroecosistema, haciéndolo poco diverso (Oehl et al., 2004; Verbruggen et al., 2012). Esto tendría consecuencias negativas en dos sentidos: a) en términos productivos, debido a que las morfoespecies de HMA seleccionadas en ambientes con intenso manejo agronómico, no siempre aumentan el crecimiento y rendimiento vegetal de los cultivos (Oehl et al., 2004; Trejo et al., 2011) y b) a nivel ecosistema, porque la pérdida de morfoespecies reducirá los servicios ecosistémicos, volverá a los agroecosistemas más vulnerables a plagas y enfermedades, y a las perturbaciones, ya que la diversidad funcional y taxonómica modifican procesos en los ecosistemas terrestres, tales como: el control de plagas, la producción de biomasa y el ciclo de nutrientes (Coleman y Whitman, 2005; Mace et al., 2012).

En este trabajo, se esperaba que la fertilización química y el uso frecuente de plaguicidas en el agroecosistema SMCII, redujeran la riqueza de morfoespecies de HMA; sin embargo, éste agroecosistema presentó alta riqueza de morfoespecies, similar a la del agroecosistema con poco manejo agronómico. Este resultado inesperado podría explicarse debido a que en este agroecosistema habían diversas especies de plantas arvenses de ciclo de vida corto asociadas al cultivo de Chile (datos no presentados), que representan hospederos alternativos para los HMA (Oehl et al., 2010; Alguacil et al., 2014). Al respecto, van der Heijden et al. (1998) y Burrows y Pfleger (2002) observaron un incremento en el número de morfoespecies de HMA al aumentar la riqueza de especies vegetales. Además, en el agroecosistema SMCII se hacen rotaciones de

cultivo, y en el año anterior, se había sembrado una mezcla de maíz-frijol, especies vegetales que son importantes para mantener viables los propágulos y la riqueza de los HMA.

El índice de Shannon-Wiener indica que la diversidad varió de 1.9 a 2.5, valores similares a los reportados para el cultivo de *C. annuum*, y para sitios con diferente manejo y tipo de suelo (Chen et al., 2012; Oehl et al., 2010), pero más altos que los reportados en cultivo de café (Arias et al., 2012). Los agroecosistemas con manejo agronómico intenso (SMCI y SMCI) presentaron menor diversidad y equidad, pero mayor dominancia de morfoespecies. La disminución de la riqueza y de la diversidad de morfoespecies en los agroecosistemas con manejo intenso, se atribuye a la frecuente aplicación de fertilizantes minerales en estos agroecosistemas, lo cual concuerda con estudios en pastizales y agroecosistemas semiáridos (Oehl et al., 2004, 2010; Alguacil et al., 2014; Bainard et al., 2014).

Un efecto notable del manejo agronómico del cultivo de chile está relacionado con la abundancia de morfoespecies de HMA de la familia Glomeraceae. En los agroecosistemas con manejo agronómico intenso, *C. claroideum* y *F. geosporum* representaron poco más del 50% de las esporas registradas en la comunidad, caso contrario a los agroecosistemas con moderado y bajo manejo agronómico, donde constituyeron menos del 30% de las esporas registradas (datos no mostrados). Esto explica la alta dominancia y la baja diversidad registrada en los agroecosistemas con manejo agronómico intenso.

Las características físicas y químicas del suelo afectan la composición, abundancia y distribución de las morfoespecies de HMA (Oehl et al; 2010; González-Cortes et al., 2012; Jansa et al., 2014). Los resultados del análisis de correspondencia canónica indicaron que el pH y el P-asimilable fueron las variables edáficas que afectaron la abundancia y la distribución de las morfoespecies de HMA, especialmente en los agroecosistemas con manejo agronómico intenso, los cuales mostraron valores altos de pH y fósforo. La disponibilidad de fósforo afecta negativamente la composición, la distribución y la diversidad de la comunidad de HMA (Oehl

et al., 2010; Bainard et al., 2014; Jansa et al., 2014). Además, el pH y las propiedades químicas dependientes del pH son factores importantes en la distribución y composición de la comunidad de HMA en ecosistemas naturales y agrícolas (Hijri et al., 2006; Bainard et al. 2014).

El análisis de correspondencia canónica también mostró que la mayoría de las morfoespecies de HMA parecen preferir o incluso estar restringidas a los agroecosistemas con poco y moderado manejo agronómico, donde el P-asimilable es bajo y el pH es ligeramente ácido. Sin embargo, *F. geosporum*, *A. colombiana*, *A. laevis* y *A. morrowiae* se agruparon a lo largo del vector P-asimilable, en el primer eje, en donde se agrupa el agroecosistema SMCII, cuyo P-asimilable es alto (72 mg kg⁻¹). Por otra parte, *C. luteum*, *Funneliformis* sp. 1 y *Glomus* sp. 1 se agruparon en el segundo eje con el pH, que corresponde al agroecosistema SMCI que tiene el pH más alto (7.4).

Los resultados señalan que muchas morfoespecies HMA prefieren ciertos hábitats, y sugieren que algunas morfoespecies tienen nichos específicos para proliferar, presentando diferentes niveles de tolerancia a la intensidad del manejo y a las características del suelo como se ha descrito por Verbruggen et al. (2012) y Alguacil et al. (2014), lo que origina agrupamientos particulares de HMA en los agroecosistemas de estudio. De acuerdo con Oehl et al. (2010) sería interesante saber si, por ejemplo, las morfoespecies de *Scutellospora* y *Gigaspora*, que habitan en los suelos con moderado o bajo manejo agronómico, cumplen con las mismas funciones ecológicas que las morfoespecies de *Glomus* y *Acaulospora* que dominan los agroecosistemas con intenso manejo agronómico.

4.6. CONCLUSIONES

En los seis agroecosistemas de muestreo se registraron 33 morfoespecies de HMA presentes en la rizosfera de chile poblano. La intensificación del manejo agrícola afectó negativamente la composición y la estructura de la comunidad de los HMA. El pH y el contenido de P-asimilable fueron los factores más importantes que regulan la distribución y

abundancia de las morfoespecies de HMA, determinando la ocurrencia de morfoespecies particulares en determinados sitios en el cultivo de chile poblano.

Los resultados del análisis multivariado complementan los resultados obtenidos a partir de los índices de similitud y los índices diversidad-dominancia, y muestran que las propiedades de los suelos y la intensidad del manejo agrícola modifican la distribución y la estructura de la comunidad de HMA en los agroecosistemas estudiados. En general, la intensidad en el manejo del uso de suelo y las características de éste, deben ser tomadas en cuenta cuando se analiza y se compara la comunidad de HMA en los agroecosistemas.

CAPÍTULO V

INFLUENCIA DEL MANEJO AGRONÓMICO EN LA EFECTIVIDAD DE CONSORCIOS NATIVOS DE HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES EN CHILE POBLANO (*Capsicum annuum* L.)

RESUMEN

Se determinó la influencia del manejo agronómico sobre la efectividad de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en el crecimiento y nutrición de *Capsicum annuum*. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con siete tratamientos y diez réplicas. Después de 90 días, se determinaron las variables agronómicas de crecimiento, el contenido foliar de N, P y K, y el porcentaje de colonización y el número de esporas, así como la dependencia micorrízica. El consorcio SMZ, aislado del agroecosistema con manejo moderado, aumentó significativamente ($p \leq 0.05$) el diámetro del tallo, la altura y el área foliar de las plantas. En contraste, el consorcio SMCI, aislado del agroecosistema con manejo intenso, produjo los valores más bajos en todas las variables de crecimiento. Todos los consorcios de HMA incrementaron el contenido foliar de N y K; sin embargo, sólo el consorcio SMZ contribuyó significativamente ($p \leq 0.05$) en el contenido de P. Las plantas inoculadas con los consorcios SMCII y SMZ presentaron mayor dependencia micorrízica para la producción de biomasa aérea y para la acumulación de nutrientes, respectivamente. La propagación y uso de consorcios nativos de HMA que promueven el crecimiento y la nutrición de chile poblano, pueden ser importantes para fomentar la sustentabilidad de este cultivo.

Palabras clave: chile poblano, riqueza, inóculo micorrízico, crecimiento vegetal, dependencia micorrízica.

CHAPTER V

INFLUENCE OF AGRONOMIC MANAGEMENT IN THE EFFECTIVENESS OF NATIVE CONSORTIA OF ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI IN POBLANO PEPPER (*Capsicum annuum* L.)

ABSTRACT

The influence of the agronomic management on the effectiveness of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on the growth and nutrition of *Capsicum annuum* was determined. A completely randomized experimental design with seven treatments and ten replicates was used. After 90 days, the plant growth parameters, the leaf content of N, P and K, the percentage of colonization and the number of spores, as well as the mycorrhizal dependency were determined. The SMZ consortium, isolated from the agroecosystem with moderate management, significantly ($p \leq 0.05$) increased stem diameter, height, and leaf area of plants. In contrast, the SMCI consortium, isolated from the agroecosystem with intensive management, resulted in lowest values for all growth parameters. All AMF consortia increased the leaf content of N and K; however, only the SMZ consortium contributed significantly to the P content. Plants inoculated with the SMCII and SMZ consortia showed greater mycorrhizal dependency for aerial biomass production and for nutrient accumulation, respectively. The propagation and use of native AMF consortia that promote both growth and nutrition of “poblano pepper” may be important for promoting sustainability of this crop.

Key words: poblano pepper, richness, mycorrhizal inocula, plant growth, mycorrhizal dependency.

5.1. INTRODUCCIÓN

México es el país con mayor diversidad genética de chile (*Capsicum* spp.) y uno de los principales productores en el mundo. El chile “poblano” (*C. annuum*) es uno de los cultivos más importantes económicamente en México, por la superficie sembrada y su consumo (Rodríguez et al., 2007). Los frutos contienen abundantes vitaminas (A, E, B y C), ácido fólico y potasio (López, 2003, Long, 2011), y capsaicinoides (Morán-Bañuelos et al., 2008) con efectos preventivos y terapéuticos en la salud humana (López, 2003; Rohrig, 2014). Este cultivo, tiene relevancia alimenticia y cultural al ser ingrediente básico en la gastronomía mexicana (Rodríguez et al., 2007; Morán-Bañuelos et al., 2008).

El sistema de producción de chile “poblano” utilizado por los agricultores mexicanos, incluye la aplicación de fertilizantes y plaguicidas en dosis altas, lo que eleva los costos de producción y provoca problemas de contaminación ambiental (Sánchez-Roque et al., 2016). Ante esta problemática, se ha considerado el uso de microorganismos promotores del crecimiento vegetal, como los hongos micorrízicos arbusculares (HMA), para mejorar el crecimiento de las plantas a través de la captación de fósforo disponible y otros nutrientes esenciales (Smith y Smith 2012), así como para atenuar el estrés vegetal provocado por factores bióticos y abióticos (Finlay, 2008; Gianinazzi et al., 2010).

Los HMA son un grupo funcional clave para los agroecosistemas, por su amplia distribución geográfica y taxonómica, y porque comúnmente están asociados con muchos cultivos (Parniske, 2008; Brundrett, 2009; Alarcón et al., 2012). En el cultivo de chile (*Capsicum* spp.), los HMA se asocian con diferentes especies y variedades, con niveles de colonización varían desde 38% hasta 68% (Cardona et al., 2008; Castillo et al., 2010; Boonlue et al., 2012; Chen et al., 2012; Vays y Vays et al., 2012).

En *Capsicum frutescens* y *C. chinense*, los HMA aumentan la floración, el crecimiento y la producción de frutos (Constantino et al., 2008; Alonso-Contreras et al., 2013; Boonlue et

al., 2012) e incrementan significativamente el contenido de fósforo inorgánico (Boonlue et al., 2012). En *C. annuum*, los HMA disminuyen el estrés al trasplante, aceleran la etapa de maduración de las plantas, incrementan y mejoran la calidad de los frutos (Castillo et al., 2009), y tienen un efecto positivo sobre el contenido de clorofila, el diámetro del tallo, el área foliar, el peso seco de la parte aérea y de la raíz (Kim et al., 2010; Alonso-Contreras et al., 2013). No obstante estos beneficios, se ha reportado que la dependencia micorrízica entre los genotipos de *C. annuum* muestra variaciones (Sensoy et al., 2007), lo que incide sobre su necesidad hacia los HMA y los efectos que éstos ejercen en las plantas.

La efectividad de los HMA, es decir, la capacidad que éstos hongos tienen para promover el crecimiento, la nutrición u otra variable de respuesta vegetal, puede cambiar en función de la riqueza y la composición de especies, la procedencia del inóculo y el manejo agrícola (Hoeksema et al., 2010; Vosátka et al., 2012). Los inóculos de HMA con alta riqueza y composición de especies afectan positivamente el crecimiento, nutrición y productividad de los cultivos (Douds, 2009; Trejo et al., 2011; Boonlue et al., 2012; Douds et al., 2012), debido a que existe alta complementariedad funcional entre las especies que lo integran (Eun-Hwa et al., 2013). Por lo anterior, la selección de HMA nativos que aumenten el crecimiento vegetal y confieran resistencia a factores bióticos y abióticos, es importante para desarrollar sistemas agrícolas sustentables. El objetivo de este trabajo fue conocer el efecto de seis consorcios nativos, aislados de agroecosistemas de Chile poblano con diferente manejo agronómico, sobre el crecimiento y la nutrición de *Capsicum annuum*.

5.2. MATERIALES Y MÉTODOS

5.2.1. Recolección de suelo rizosférico con los consorcios

Se tomaron muestras de suelo rizosférico y raíces en cinco plantas de Chile poblano (*C. annuum*) cultivadas en seis agroecosistemas localizados en la región de San Pedro Cholula, Puebla. Los agroecosistemas se seleccionaron de acuerdo con la intensidad de manejo: a) San

Martinito (SM) con poco manejo agronómico, b) Santa María Zacatepec (SMZ), Juárez Coronaco I y II (JCI y JCII) con manejo agronómico moderado, y c) San Mateo Capultitlán I y II (SMCI y SMCII) con manejo agronómico intenso (ver capítulo IV).

5.2.2. Colonización de la raíz y composición de morfoespecies de HMA en los consorcios

Las raíces frescas recolectadas de campo se lavaron con agua corriente y se determinó el porcentaje de colonización micorrízica por el método de clareo y tinción con azul de tripano al 0.05% (Phillips y Hayman, 1970) seguida por la observación, bajo microscopio compuesto, de 20 segmentos de raíz montados en laminillas (Brundrett et al., 1996).

Las esporas de HMA se extrajeron por el método de tamizado húmedo y decantación (Gerdeman y Nicolson, 1963) seguida de centrifugación con gradiente de sacarosa al 20 y 60% (Sieverding, 1983). Bajo la observación en un estereoscopio, las esporas se separaron y se colocaron en preparaciones con PVLG + Reactivo de Melzer, previo registro de su coloración natural. Sólo las esporas intactas y saludables se contaron y revisaron en microscopio óptico con contraste de interferencia de Nomarski (Nikon Optiphot II Plus) con reglilla micrométrica acoplada al ocular. La identificación de las morfoespecies, se realizó con base en las descripciones especializadas de las especies de los diferentes géneros y la información disponible a través de los recursos electrónicos de la International Collection of Vesicular and Arbuscular Mycorrhizal Fungi (INVAM) (<http://invam.wve.edu/>), y de Janusz Blaszkowski, taxónomo de Glomeromycota (<http://www.zor.zut.edu.pl/Glomeromycota/>).

5.2.3. Efectividad de consorcios nativos de HMA en el crecimiento y nutrición de *C. annuum*

El experimento se llevó a cabo en los meses de junio a septiembre de 2015. Los tratamientos consistieron en un control fertilizado, como lo hacen los productores locales y seis consorcios nativos de HMA provenientes de los agroecosistemas de campo: San Martinito

(SM), Santa María Zacatepec (SMZ), Juárez Coronaco I y II (JCI y JCII) y San Mateo Capultitlán I y II (SMCI y SMCII).

El suelo usado como sustrato para el establecimiento del experimento, fue una mezcla de tepetate café mezclado con arena (2:1, v/v), con textura franco-arenosa, pH de 7.4, conductividad eléctrica de 0.11 dSm^{-1} , 0.09% de materia orgánica, 8.8 mg kg^{-1} de N-inorgánico y 5.51 mg kg^{-1} de P-asimilable.

Las semillas de chile poblano, previamente desinfectadas con hipoclorito de sodio al 5%, se sembraron en charolas de plástico transparentes con domo, utilizando una mezcla de turba con vermiculita (8:1 v/v) como sustrato estéril ($120 \text{ }^{\circ}\text{C}$ y 15 lb de presión por 1 h, por dos días consecutivos y 48 h de aireación).

Se llenaron macetas de 1L, a tres cuartos de su capacidad, con una mezcla de tepetate con arena (2:1 v/v) como sustrato estéril, se agregaron los inóculos a evaluar (suelo de los consorcios con micelio extrarradical, raíces micorrizadas y 100 esporas de HMA), y se trasplantó una plántula de chile de 40 días de edad, de aproximadamente 7 cm de largo, cuyas raíces se cubrieron con 2 cm de sustrato estéril. En el tratamiento sin inocular se trasplantó una planta por maceta, y se cubrió con 2 cm de sustrato estéril.

El riego se hizo adicionando agua destilada en intervalos de tres días, manteniendo los cultivos a capacidad de campo, la fertilización se hizo semanalmente añadiendo a cada maceta 75 mL de la solución nutritiva Long Ashton modificada para suministrar $10.25 \text{ } \mu\text{g}$ de P mL^{-1} . Los tratamientos se mantuvieron en cámara de crecimiento a 27°C y fotoperiodo de 16 h luz.

Después de 90 días del trasplante, las plantas se cosecharon para determinar el contenido relativo de clorofila en hojas completamente expandidas, usando un analizador de clorofila (SPAD-502, Japón, Minolta); el diámetro del tallo y la altura de las plantas con un vernier digital; el área foliar mediante un integrador (Área Meter, modelo LI-3100); la biomasa seca de la parte aérea y de la raíz después de haber secado las plantas a $70 \text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta alcanzar peso

constante (FELISA, Modelo 242-A); la concentración de nitrógeno foliar se obtuvo mediante el método Kjeldahl y titulación con ácido sulfúrico 0.005 N (Bremner, 1965); y las concentraciones de P y K con un espectrofotómetro de emisión e inducción por plasma (Agilent 725 Series ICP-OES). El contenido de N, P y K foliar se estimó multiplicando la concentración de cada nutriente por el peso seco de las hojas.

El porcentaje de colonización y el número de esporas se determinaron con base en los procedimientos previamente descritos para los consorcios. La dependencia micorrízica (DM) se calculó mediante la siguiente fórmula: $DM = 100 \times [(Myc - Nomyc) / Myc.]$; donde: Myc y Nomyc se refieren al contenido de nutrientes o acumulación biomasa en las plantas micorrizadas (Myc) y no micorrizadas (Nomyc) (Smith y Smith, 2011).

5.2.4. Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar, con siete tratamientos y 10 réplicas cada uno. Los datos se sometieron a un análisis de varianza y prueba de comparación de medias (Tukey, $P \leq 0.05$), con el paquete estadístico STATISTICA versión 9.0. La relación entre el porcentaje de colonización y las variables de crecimiento vegetal se realizó mediante un análisis de correlación. Previo al análisis, los datos del porcentaje de colonización y el número de esporas se transformaron aplicándoles la función arcoseno y \log_{10} , respectivamente, para ajustarlos a la distribución normal (Steel y Torrie, 1998); el análisis de varianza y la comparación de medias se hicieron con los datos transformados, pero los resultados se muestran en las unidades originales.

5.3. RESULTADOS

5.3.1. Colonización, número de esporas y morfoespecies de HMA en los consorcios

La colonización micorrízica y el número de esporas en los consorcios de los agroecosistemas, variaron de 17 a 36%, y de 30 a 153 en 50 g de suelo⁻¹, respectivamente, mostrando diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre sí. Los agroecosistemas SMCI y SMCII,

con manejo agronómico intenso, presentaron el mayor porcentaje de colonización y número de esporas con respecto a los demás agroecosistemas (Tabla 5.1).

Las morfoespecies de la familia Glomeraceae fueron las más abundantes en todos los consorcios. El mayor número de morfoespecies se registró en los consorcios SM y SMCII, con poco e intenso manejo agronómico, respectivamente. La composición de morfoespecies de la comunidad de HMA en los consorcios con bajo y moderado manejo agronómico fue diferente a la obtenida en los agroecosistemas con manejo intenso. Por ejemplo, en los consorcios SMCI y SMCII, con manejo inteno, no se registraron morfoespecies del género *Scutellospora*; además, *Acaulospora colombiana*, *Glomus microcarpum*, *Glomus* sp. 2, y *Glomus* sp. 3 se encontraron exclusivamente en estos dos consorcios (Tabla 5.1).

5.3.2. Efectividad de los consorcios nativos de HMA en el crecimiento y nutrición de *Capsicum annuum*

El efecto de la inoculación de los consorcios nativos de HMA en el crecimiento de *C. annuum* se muestra en la Tabla 5.2. Las plantas inoculadas con los consorcios nativos de HMA presentaron valores significativamente ($p \leq 0.05$) más altos que las plantas testigo, para todas las variables de crecimiento. El consorcio SMZ, aumentó significativamente ($p \leq 0.05$) el diámetro del tallo, la altura de la planta, y el área foliar; este consorcio junto con el consorcio SMCII promovieron mayor biomasa de raíces, de parte aérea y total. En contraste, el consorcio SMCI resultó en valores más bajos para todas las variables de crecimiento y en algunos casos, sin mostrar diferencias significativas con respecto al testigo (Tabla 5.2).

El contenido foliar de N, P y K varió de 21 a 34, de 1.4 a 2.8, y de 4.6 a 16.9 mg⁻¹, respectivamente, entre los tratamientos. Todos los consorcios de HMA aumentaron significativamente el contenido foliar de N y K; sin embargo, sólo el consorcio SMZ incrementó de manera significativa ($p \leq 0.05$) el contenido de P.

Tabla 5.1. Características de manejo agronómico, colonización de la raíz, número de esporas y riqueza de morfoespecies de HMA en los consorcios de agroecosistemas de chile poblano (*Capsicum annuum*) en el estado de Puebla.

Consorcio	Manejo agronómico	Colonización (%)	Número de esporas (50 g de suelo seco)	Número de morfoespecies de HMA	Morfoespecies de HMA
SM	Bajo, con Urea y 18:46 como fertilizantes una o dos veces, deshierbe manual, uso de insecticida y fungicida una vez, y aplicación de abono orgánico dos veces.	19±9 b	67±29 abc	24	<i>Acaulospora bireticulata</i> , <i>A. laevis</i> , <i>A. mellea</i> , <i>A. morrowiae</i> , <i>A. scrobiculata</i> , <i>A. spinosa</i> , <i>Claroideoglomerus claroideum</i> , <i>C. luteum</i> , <i>Claroideoglomerus</i> sp.1, <i>Diversispora aurantia</i> , <i>D. spurca</i> , <i>Funneliformis constrictum</i> , <i>F. geosporum</i> , <i>F. mosseae</i> , <i>Funneliformis</i> sp. 1, <i>Gigaspora candida</i> , <i>G. margarita</i> , <i>Glomus</i> sp. 1, <i>Glomus</i> sp. 4, <i>Glomus</i> sp. 5, <i>Rhizophagus fasciculatus</i> , <i>Sclerocystis sinoua</i> , <i>Scutellospora dipurpurascens</i> y <i>S. pellucida</i> .
JCI	Moderado, con Urea, 18:46 y triple 17 como fertilizantes tres veces, deshierbe manual, uso de insecticida, nematicida y fungicida dos veces y aplicación de abono orgánico una vez.	17±5 b	98±28 ab	20	<i>Acaulospora laevis</i> , <i>A. morrowiae</i> , <i>A. splendida</i> , <i>Claroideoglomerus claroideum</i> , <i>C. luteum</i> , <i>Claroideoglomerus</i> sp.1, <i>Diversispora aurantia</i> , <i>Entrophospora infrequens</i> , <i>Funneliformis geosporum</i> , <i>F. mosseae</i> , <i>Funneliformis</i> sp. 1, <i>Gigaspora candida</i> , <i>Glomus minutum</i> , <i>Glomus</i> sp. 1, <i>Pacispora</i> aff. <i>franciscana</i> , <i>P. coralloidea</i> , <i>Rhizophagus fasciculatus</i> , <i>Sclerocystis sinoua</i> , <i>Scutellospora dipurpurascens</i> y <i>S. pellucida</i> .
JCII		20±4 b	53±18 bc	16	<i>Acaulospora morrowiae</i> , <i>Claroideoglomerus claroideum</i> , <i>C. luteum</i> , <i>Claroideoglomerus</i> sp.1, <i>Diversispora aurantia</i> , <i>D. spurca</i> , <i>Funneliformis geosporum</i> , <i>F. mosseae</i> , <i>Funneliformis</i> sp. 1, <i>Gigaspora candida</i> , <i>Glomus</i> sp. 1,

					<i>Glomus</i> sp. 4, <i>Rhizophagus fasciculatus</i> , <i>Sclerocystis sinousa</i> , <i>Scutellospora dipurpurascens</i> y <i>S. pellucida</i> .
SMZ		29±11 ab	30±19 c	17	<i>Acaulospora laevis</i> , <i>A. morrowiae</i> , <i>A. scrobiculata</i> , <i>A. spinosa</i> , <i>Claroideoglomerus claroideum</i> , <i>C. luteum</i> , <i>Claroideoglomerus</i> sp.1, <i>Diversispora aurantia</i> , <i>Funneliformis geosporum</i> , <i>F. mosseae</i> , <i>Funneliformis</i> sp. 1, <i>Gigaspora candida</i> , <i>Glomus</i> sp. 1, <i>Glomus</i> sp. 4, <i>Rhizophagus fasciculatus</i> , <i>Sclerocystis sinousa</i> y <i>Scutellospora pellucida</i> .
SMCI	Intenso, con Urea, 18:46 y triple 17 como fertilizante cuatro o cinco veces, deshierbe manual, uso de insecticida, nematicida, herbicidas y fungicida tres veces y aplicación de abono orgánico una vez	36±7 a	111± 73 ab	15	<i>Acaulospora laevis</i> , <i>A. morrowiae</i> , <i>A. scrobiculata</i> , <i>Claroideoglomerus claroideum</i> , <i>C. luteum</i> , <i>Diversispora aurantia</i> , <i>Funneliformis geosporum</i> , <i>F. mosseae</i> , <i>Funneliformis</i> sp. 1, <i>Glomus</i> aff. <i>microcarpum</i> , <i>Glomus</i> sp. 1, <i>Glomus</i> sp. 3, <i>Glomus</i> sp. 5, <i>Rhizophagus fasciculatus</i> y <i>Sclerocystis sinousa</i> .
SMCII		24±5 ab	153±65 a	24	<i>Acaulospora colombiana</i> , <i>A. laevis</i> , <i>A. mellea</i> , <i>A. morrowiae</i> , <i>A. scrobiculata</i> , <i>A. spinosa</i> , <i>Claroideoglomerus claroideum</i> , <i>C. luteum</i> , <i>Claroideoglomerus</i> sp.1, <i>Diversispora aurantia</i> , <i>Funneliformis constrictum</i> , <i>F. geosporum</i> , <i>F. mosseae</i> , <i>Funneliformis</i> sp. 1, <i>Gigaspora candida</i> , <i>G. margarita</i> , <i>Glomus</i> aff. <i>microcarpum</i> , <i>Glomus</i> sp. 1, <i>Glomus</i> sp. 2, <i>Glomus</i> sp. 3, <i>Glomus</i> sp. 4, <i>Glomus</i> sp. 5, <i>Rhizophagus fasciculatus</i> y <i>Sclerocystis sinousa</i> .

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey, $\alpha=0.05$). Medias \pm error estándar (n=5). Simbología: SM= San Martinito, JCI y JCII= Juárez Coronaco I y II, SMZ= Santa María Zacatepec, SMCI y SMCII= San Mateo Capultitlán I y II.

Tabla 5.2. Efectividad de consorcios nativos de HMA en el crecimiento de plantas de chile poblano (*Capsicum annuum*).

Tratamiento	Clorofila	Diámetro de	Altura	Área foliar	Raíz (g)	Biomasa seca	
	(unidades SPAD)	tallo (mm)	(cm)	(cm ²)		Parte aérea (g)	Total (g)
Testigo	55.38±5.1 ab	1.72±0.17 b	9.88±0.9 c	53.38±9.1 c	0.04±0.01 c	0.28±0.05 c	0.32±0.06 c
SM	57.13±3.1 a	3.09±0.15 a	26.50±1.2 a	120.25±7.1 ab	0.16±0.01 ab	0.70±0.04 a	0.86±0.05 a
JCI	59.63±3.3 a	2.90±0.30 a	23.25±1.5 ab	109.00±12.7 ab	0.18±0.03 ab	0.65±0.08 ab	0.83±0.11 ab
JCII	54.88±3.2 ab	2.83±0.15 a	25.75±0.9 ab	131.00±9.5 ab	0.18±0.02 ab	0.68±0.04 a	0.86±0.06 a
SMZ	54.63±2.9 ab	2.95±0.21 a	26.31±0.7 a	139.25±13.6 a	0.13±0.01 b	0.69±0.08 a	0.82±0.09 ab
SMCI	50.75±2.7 b	2.55±0.15 a	21.63±0.6 b	93.75±6.4 bc	0.13±0.01 b	0.41±0.03 bc	0.54±0.04 bc
SMCII	58.63±1.9 a	3.17±0.11 a	22.63±1.2 ab	116.25±9.1 ab	0.21±0.02 a	0.72±0.05 a	0.93±0.07 a

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey, $\alpha=0.05$). Media \pm el error estándar (n=10). Simbología: SM= San Martinito, JCI y JCII= Juárez Coronaco I y II, SMZ= Santa María Zacatepec, SMCI y SMCII= San Mateo Capultitlán I y II.

La dependencia micorrízica del chile poblano varió entre los consorcios inoculados. Las plantas con los consorcios SMCII y SMZ presentaron incrementos en la dependencia micorrízica con respecto a la producción de biomasa aérea seca (Figura 5.2a), y en el contenido de nutrientes en tejido foliar (Figura 5.2b). En contraste, las plantas inoculadas con el consorcio SMCI mostraron la menor dependencia micorrízica para biomasa aérea seca y contenido foliar de P (Figura 5.2a y b)

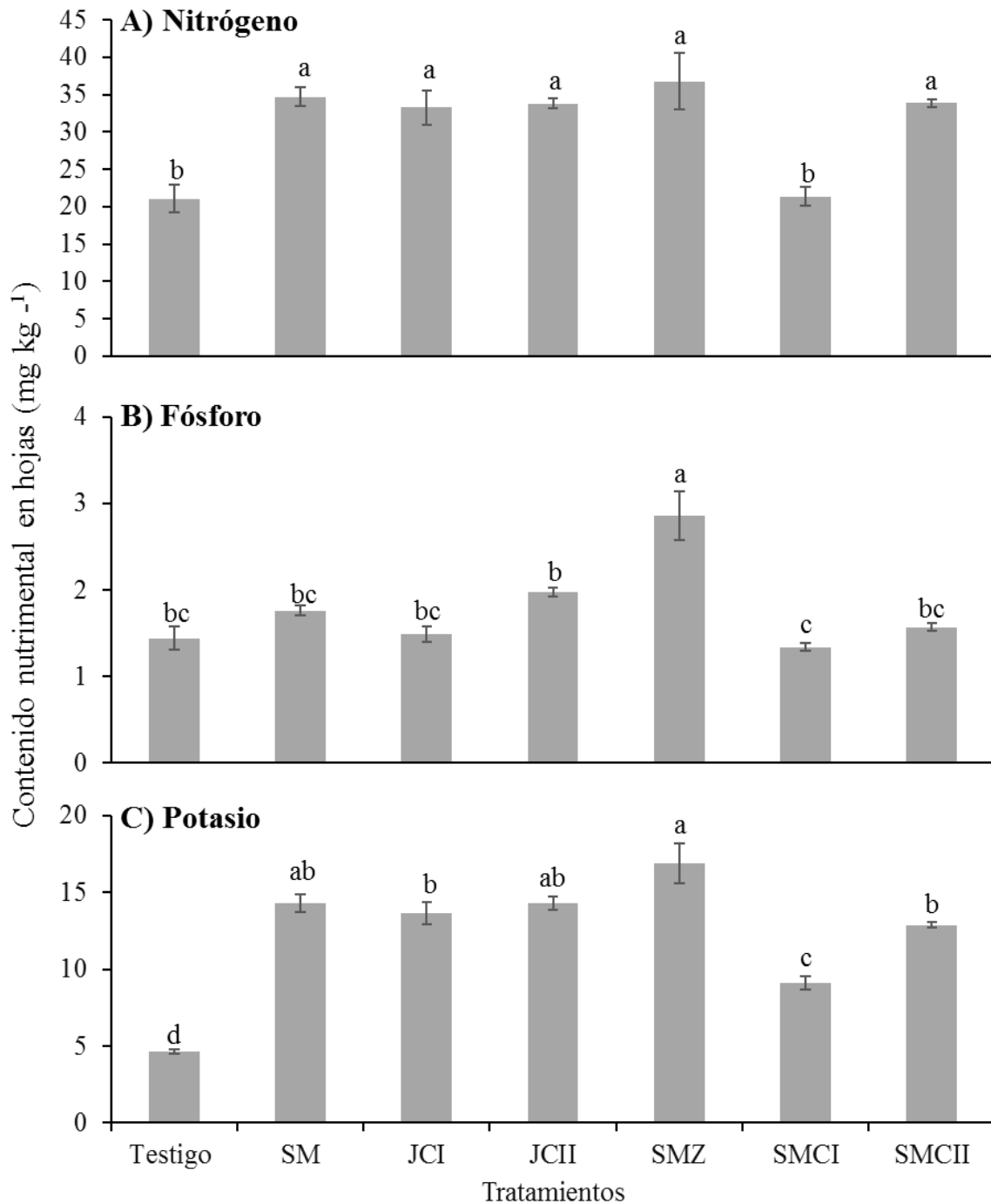


Figura 5.1. Contenido de N, P y K en tejido foliar de plantas de chile poblano inoculadas con consorcios nativos de HMA. Medias con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey, $\alpha=0.05$). Media \pm el error estándar (n=4). Simbología: SM= San Martinito, JCI y JCII= Juárez Coronaco I y II, SMZ= Santa María Zacatepec, SMCI y SMCII= San Mateo Capultitlán I y II.

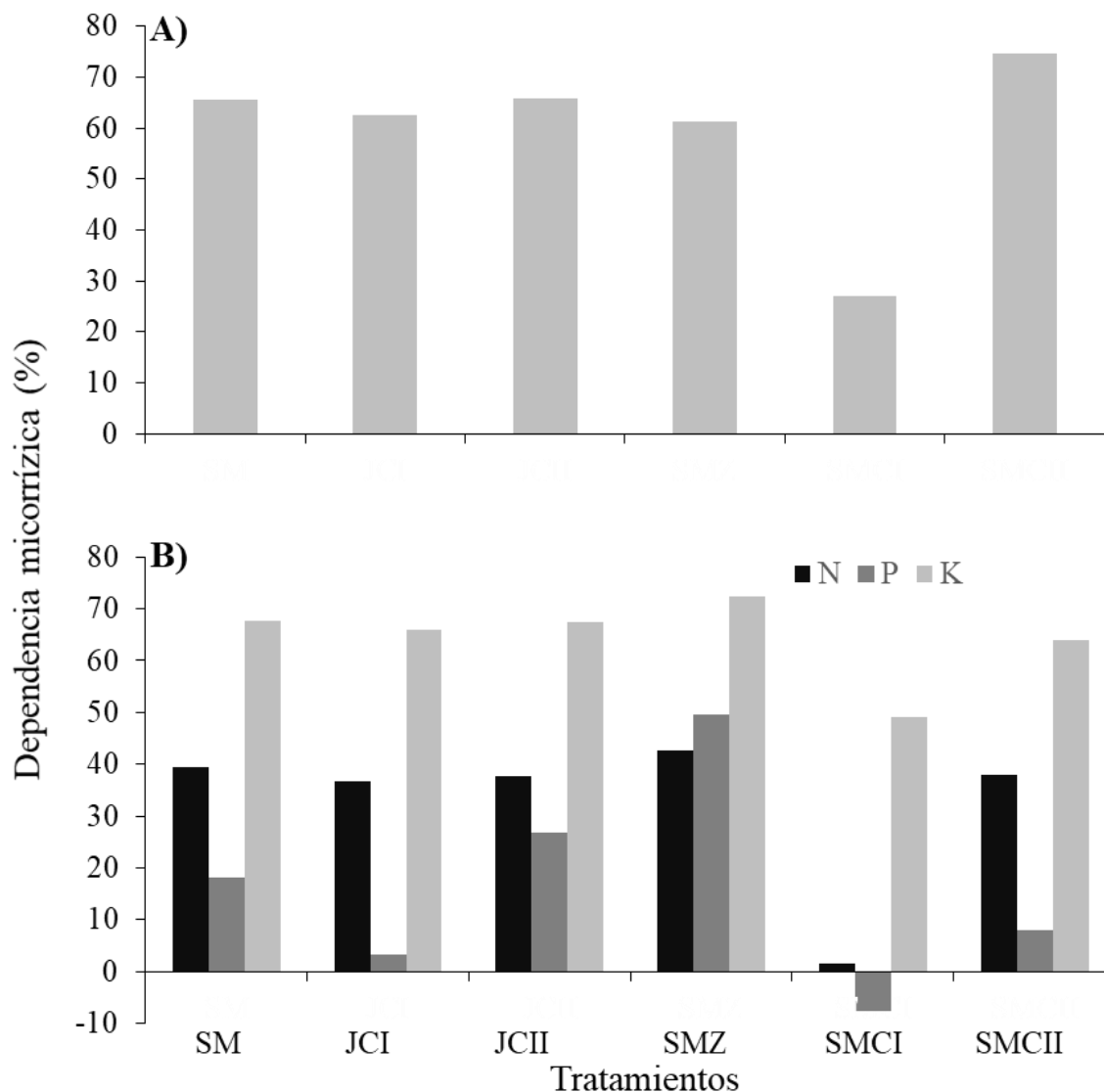


Figura 5.2. Dependencia micorrízica en la acumulación de biomasa aérea (A) y en el contenido de nutrientes (B) de chile poblano inoculado con seis consorcios nativos de HMA. Simbología: SM= San Martinito, JCI y JCII= Juárez Coronaco I y II, SMZ= Santa María Zacatepec, SMCI y SMCII= San Mateo Capultitlán I y II.

La colonización micorrízica varió de 0 a 46% y el número de esporas de 5 a 151 en 50 g de suelo seco, con diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre tratamientos. Los valores de colonización significativamente ($p \leq 0.05$) más altos se registraron en las plantas inoculadas con el consorcio

SMZ (manejo agronómico moderado); mientras que las plantas inoculadas con el consorcio SM (poco manejo) se encontró el mayor número de esporas. En contraste, el tratamiento SMCI (manejo intenso) presentó el menor número de esporas y porcentaje de colonización. Las plantas testigo no presentaron colonización micorrízica (Figura 5.3).

5.4. DISCUSIÓN

5.4.1. Colonización, número de esporas y morfoespecies de HMA en los consorcios

Las prácticas intensivas de manejo agrícola como la fertilización química, el control de plagas, el monocultivo continuo y la labranza afectan las interacciones de los HMA con las plantas (Oehl et al., 2004; 2010; Alguacil et al., 2014). Estas prácticas agronómicas, solas o en combinación, modifican la estructura de la comunidad de los HMA, ya que afectan varias de sus características biológicas como la estrategia de esporulación, la composición de especies, y la distribución espacial (Verbruggen y Kiers, 2010).

En el presente estudio, los consorcios de los agroecosistemas con manejo agronómico intensivo (SMCI y SMCII) produjeron el mayor porcentaje de colonización y número de esporas (Tabla 5.1). Esto se puede explicar porque en estos consorcios se registraron más morfoespecies del género *Glomus sensu lato*, las cuales se han reportado de manera frecuente en suelos con manejo intensivo, además de que las morfoespecies de este género en su mayoría, esporulan rápido y abundantemente (Oehl et al., 2003, 2004; Verbruggen y Kiers, 2010). Al respecto, en cultivo de papaya, se documentó que la adición de fertilizantes fosfatados (roca fosfórica y superfosfato triple) estimuló la esporulación de morfoespecies de *Glomus* sp. (Quiñones-Aguilar et al., 2014).

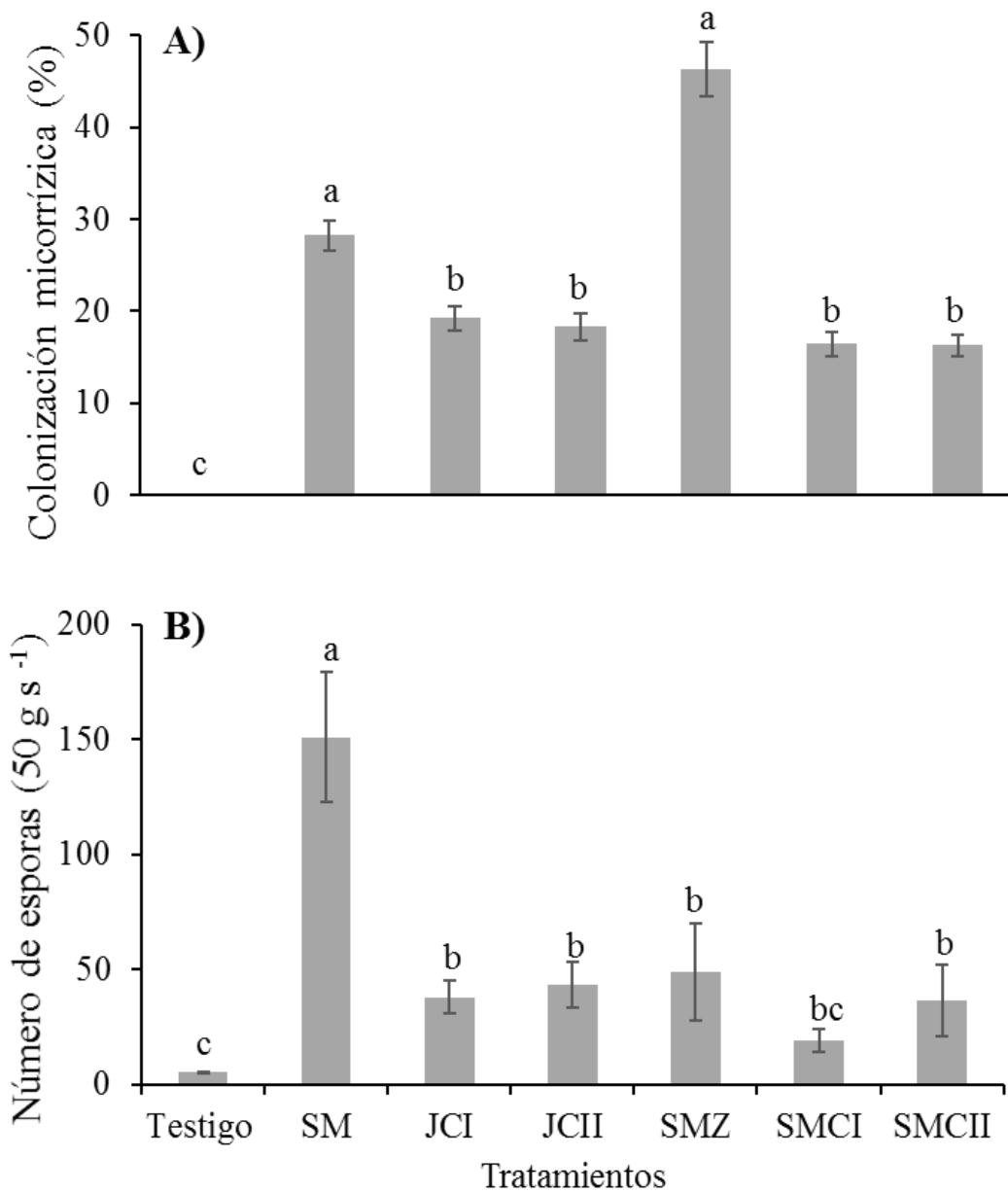


Figura 5.3. Colonización micorrízica arcuscular (A) y número de esporas hongos micorrízicos arbusculares (HMA) (B) en plantas de chile poblano inoculadas con consorcios nativos de HMA en cámara de crecimiento. Medias con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey, $\alpha=0.05$). Media \pm el error estándar (n=10). Simbología: SM= San Martinito, JCI y JCII= Juárez Coronaco I y II, SMZ= Santa María Zacatepec, SMCI y SMCII= San Mateo Capultitlán I y II.

El número de esporas y morfoespecies de HMA son dos componentes importantes para la sustentabilidad de los ecosistemas y los agroecosistemas (Alonso-Contreras et al., 2013). La riqueza de morfoespecies de HMA registradas en este estudio es alta en comparación con las 21 morfoespecies reportadas para otras especies y variedades de Chile (Cardona et al., 2008; Castillo et al., 2010; Boonlue et al. 2012; Chen et al., 2012; Vays y Vays, 2012). La riqueza registrada, puede indicar alta diversidad y complementariedad funcional de los HMA (Dandan y Zhiwei, 2007; Eun-Hwa et al., 2013), lo que hace posible que la captura de nutrientes sea efectiva, atenuando así, el estrés nutrimental en las plantas de Chile, y con ello favorecer su desarrollo (Chen et al., 2012; Douds et al., 2012; Alonso-Contreras et al., 2013).

Los consorcios de HMA en los agroecosistemas SMCI y JCII con manejo agronómico intenso y moderado, respectivamente, presentaron menos morfoespecies que el agroecosistema con bajo manejo (SM). La disminución de morfoespecies en los agroecosistemas con manejo agronómico intensivo y moderado, concuerda con lo reportado para fincas de café (Arias et al., 2012; Trejo et al., 2011), cultivo de aguacate y maíz (González-Cortes et al., 2012), y en sitios con diferente manejo agrícola y uso de suelo (Oehl et al., 2010; Verbruggen et al., 2012).

Los resultados denotan que si el cultivo de Chile sigue siendo sometido a la aplicación intensiva de insumos agrícolas, se puede propiciar la pérdida de la diversidad morfológica, genética y funcional de los HMA, como ha sido discutido por Oehl et al. (2004) y Verbruggen et al. (2012). Esto tendría consecuencias negativas en los cultivos, en términos productivos, dado que las morfoespecies de HMA presentes en los agroecosistemas con intenso manejo agronómico, no siempre son efectivas para promover el crecimiento y el rendimiento de los cultivos (Oehl et al., 2004; Trejo et al., 2011). Además, en los agroecosistemas de Chile, la pérdida de morfoespecies modificaría procesos ecosistémicos como el control de plagas y enfermedades, la producción de

biomasa y los ciclos de nutrientes. Por lo tanto, los hará más vulnerables a plagas, enfermedades y perturbaciones (Gianinazzi et al., 2010; Mace et al., 2012).

Con el fin de hacer uso eficiente de los HMA en la estabilidad y productividad agrícola a largo plazo, es necesario aumentar el conocimiento sobre el impacto que tienen las diferentes estrategias de producción agrícola, sobre la composición de las comunidades de HMA, así como su relación con la producción y calidad de los cultivos.

5.4.2. Efecto de los consorcios nativos de HMA en el crecimiento y nutrición de *C. annuum*

Los HMA tienen efectos positivos significativos en el crecimiento de *Capsicum* spp. y en otros cultivos que crecen bajo diferentes condiciones ambientales (Sensoy et al., 2007; Douds, 2009; Trejo et al., 2011; Boonlue et al., 2012; Quiñones-Aguilar et al., 2014). Los resultados del presente trabajo muestran clara interacción entre las plantas de chile poblano y los HMA, ya que se encontró una correlación positiva y significativa entre el porcentaje de colonización con variables como la altura ($P \leq 0.05$, $r^2 = 0.66$), el área foliar ($P \leq 0.05$, $r^2 = 0.58$), y la biomasa aérea ($P \leq 0.05$, $r^2 = 0.45$). Además, se observaron diferencias en todas las variables de crecimiento entre las plantas inoculadas y no inoculadas (Tabla 5.2), lo que demuestra que la simbiosis micorrízica contribuyó de manera significativa en la nutrición y el crecimiento de las plantas de chile.

Todos los consorcios micorrízicos favorecieron significativamente ($p \leq 0.05$) el crecimiento vegetal, el contenido foliar de N y K; sin embargo, sólo el consorcio SMZ incrementó significativamente el contenido foliar de P (Figura 5.2). Esto concuerda con lo reportado en el cultivo de *C. frutescens* y de *C. annuum* (Sensoy et al., 2007; Boonlue et al., 2012; Douds et al., 2012), y en papaya (*Carica papaya* L.) bajo diferentes dosis de fertilización (Quiñones-Aguilar et al., 2014).

El consorcio SMZ, que proviene del agroecosistema con manejo moderado, promovió mayor absorción de nutrientes, produciendo plantas más altas y vigorosas, con mayor expansión foliar y alta dependencia micorrízica (Tabla 5.1; Figura 5.2b). Estos resultados coinciden con los obtenidos en el estudio realizado por Trejo et al. (2011) quienes reportan que los consorcios aislados de los suelos con manejo tecnológico medio, produjeron efectos significativos en el crecimiento y desarrollo de *Coffea arabica* var. Garnica, en condiciones de invernadero y de campo. Esto puede deberse a que el inóculo del agroecosistema con manejo agronómico moderado (SMZ) presentó alta riqueza y diversa composición de morfoespecies de HMA, la cual pudo promover el crecimiento, la nutrición y la productividad vegetal (Douds, 2009; Trejo et al., 2011; Douds et al., 2012).

Las plantas inoculadas con el consorcio SMCI, aislado de un agroecosistema con manejo intensivo, presentaron los valores más bajos en todas las variables de crecimiento, y en algunos casos sin mostrar diferencias significativas ($p \leq 0.05$) con el testigo (Tabla 5.2). Esto puede relacionarse con el menor porcentaje de colonización registrado en dichas plantas, así como con su baja diversidad de morfoespecies de HMA (Tabla 5.1). Además, las morfoespecies de HMA aisladas de los suelos con manejo agronómico intensivo, no siempre muestran efectividad en la promoción del crecimiento vegetal (Oehl et al., 2004; Trejo et al., 2011). Lo anterior contrasta con aquellas morfoespecies de HMA aisladas de cultivos orgánicos, las cuales generan efectos benéficos en el crecimiento de plantas de Chile (Boonlue et al., 2012).

La captación de P en las plantas se da a través de las raíces y mediante la asociación con los HMA. Las dos vías de absorción de fósforo en una raíz micorrizada involucran distintas regiones de la raíz, diferentes tipos de células y transportadores de este nutriente (Smith y Smith, 2011; Smith y Smith, 2012), por lo que se considera que ambas formas de captación de P son complementarias. No obstante, Li et al. (2006) sugieren que la vía de absorción de P a través de las

raíces se suprime cuando los HMA están asociados con las raíces, lo que puede afectar de manera negativa la capacidad de las plantas para absorber fósforo. Esto puede explicar por qué las plantas inoculadas con el consorcio SMCI (manejo intenso) mostraron una dependencia micorrízica negativa para el contenido de P (Figura 5.2), lo cual se ha reportado para diferentes genotipos de *C. annuum* inoculados con *Gigaspora margarita*, con *Rhizophagus intraradices*, o con consorcios de HMA (Sensoy et al., 2007; Douds et al., 2012).

Los HMA promueven de manera eficiente la absorción de P, especialmente en suelos deficientes en este nutriente (Kim et al., 2010; Smith y Smith, 2011; Smith y Smith, 2012). Sin embargo, los resultados de dependencia micorrízica muestran que el consorcio SMCI tuvo efecto negativo en el contenido de P; en contraste, este consorcio benefició el contenido de N y K, y la producción de biomasa vegetal. Lo anterior sugiere que es necesario analizar diferentes variables de crecimiento de manera conjunta para evaluar la respuesta de las plantas a la micorrización, ya que aunque algunos consorcios o morfoespecies de HMA no necesariamente promueven el contenido de P, pueden contribuir a una mayor absorción de otros nutrimentos y al crecimiento vegetal.

El presente estudio demuestra que existe una efectividad diferencial en los consorcios nativos de HMA del cultivo de chile para mejorar el crecimiento y la nutrición de las plantas del mismo, y con ello, reducir el uso de fertilizantes. Los resultados de las variables de crecimiento sugieren que el consorcio SMZ, (manejo moderado), tiene mayor potencial para promover el crecimiento vegetal, debido al mejoramiento de la absorción de nutrientes. En consecuencia, su uso puede ser importante para desarrollar sistemas agrícolas sustentables.

5.5. CONCLUSIONES

La composición de morfoespecies de HMA es afectada por la intensidad del manejo agronómico en el cultivo de chile poblano, donde los agroecosistemas con poco y moderado manejo agronómico, mostraron diferente composición de morfoespecies con respecto a aquella detectada en los agroecosistemas con manejo intensivo.

La efectividad de los consorcios de HMA varió por la intensidad del manejo agronómico. El consorcio SMZ (manejo moderado) promovió el crecimiento vegetal y dependencia micorrízica por las plantas, al mejorar la absorción de nutrientes.

El consorcio SMCI (manejo intenso) produjo la menor dependencia micorrízica para la biomasa aérea seca, y tuvo efecto negativo en el contenido foliar de P; en contraste, este consorcio benefició la absorción de N y K, y la producción de biomasa vegetal.

CAPÍTULO VI

RESPUESTA DEL CHILE POBLANO (*Capsicum annuum* L.) A LA INOCULACIÓN CON HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES DE DIFERENTE ORIGEN

RESUMEN

Se estudió el efecto de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) nativos e introducidos en el crecimiento y la nutrición de chile poblano (*Capsicum annuum* L.). Se inocularon plantas de *C. annuum* con dos consorcios nativos y con dos cepas introducidas de HMA (*Claroideoglomus claroideum* aislado de maíz, y un inóculo comercial de *Rhizophagus intraradices*), más un tratamiento fertilizado sin HMA, y un testigo absoluto (sin HMA y sin fertilizar). A los 105 días, se determinaron variables de crecimiento, el contenido foliar de N, P y K, el porcentaje de colonización y el número de esporas. Las plantas fertilizadas y aquellas inoculadas con el consorcio nativo SMZ presentaron mayor diámetro de tallo, biomasa total y área foliar. Las plantas con *C. claroideum* alcanzaron la mayor altura (63 cm) y contenido relativo de clorofila (67.7 unidades SPAD); mientras que *R. intraradices* aumentó significativamente el peso seco de raíz. El tratamiento fertilizado presentó mayor contenido de N, P y K en hojas (181.5, 20.6, y 68.5 mg kg⁻¹, respectivamente). Los consorcios nativos contribuyeron de manera significativa ($p \leq 0.05$) en el contenido de nutrientes; el consorcio nativo SMZ promovió mayor el número de frutos (2.5 por planta), mientras que el tratamiento fertilizado produjo el mayor peso fresco y seco de frutos. Las plantas del testigo absoluto mostraron los valores más bajos en todas las variables de crecimiento. La inoculación de plantas de chile poblano con HMA nativos puede incrementar la producción del cultivo y reducir el uso de fertilizantes.

Palabras clave: inóculo nativo, crecimiento vegetal, nutrición, micorriza, fertilización.

CHAPTER VI

RESPONSES OF POBLANO PEPPER (*Capsicum annuum* L.) TO THE INOCULATION WITH ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI OF DIFFERENT ORIGIN

ABSTRACT

The effect of native and introduced arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on the growth and nutrition of “poblano pepper” (*Capsicum annuum* L.) was studied. Plants were inoculated with two native consortia and two introduced strains of AMF (*Claroideoglomus claroideum* isolated from maize, and a commercial inoculum of *Rhizophagus intraradices*), plus a fertilized treatment without AMF, and an absolute control (without AMF and without fertilization). At 105 days, growth parameters, N, P and K leaf content, mycorrhizal colonization and number of spores were determined. Either fertilized plants or those inoculated with the SMZ native consortium showed larger stem diameter, total biomass, and leaf area. Plants with *C. claroideum* had higher height (63 cm) and chlorophyll content (67.7 SPAD units); while *R. intraradices* increased root dry weight. The fertilized treatment presented higher N, P and K content in leaves (181.5, 20.6, and 68.5 mg kg⁻¹, respectively). Native consortia contributed significantly ($p \leq 0.05$) to nutrient assimilation; in addition, the SMZ native consortium promoted a greater number of fruits (2.5 per plant), but the fertilized treatment had greater fresh and dry fruit weight. Control plants showed the lowest values in all growth parameters. Inoculation of “poblano pepper” plants with native AMF may increase crop production and reduce fertilizer utilization.

Key words: native inoculum, plant growth, nutrition, mycorrhiza, fertilization.

6.1. INTRODUCCIÓN

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) son organismos mutualistas obligados, ampliamente distribuidos en la naturaleza, que colonizan las raíces de la mayoría de las especies vegetales en una asociación conocida como micorriza arbuscular (MA) (Parniske, 2008; Brundrett, 2009). Los HMA son indispensables para el funcionamiento de los agroecosistemas ya que mejoran el crecimiento vegetal y la absorción de nutrientes, y aumentan la tolerancia de las plantas al estrés ambiental (Doubková et al., 2013; Estrada et al., 2013). Además, ayudan a estabilizar agregados y a prevenir la erosión del suelo (Finlay, 2008; Gianinazzi et al., 2010).

En los agroecosistemas la implementación de inóculos de HMA es importante cuando la diversidad y el potencial micorrízico nativo del suelo es bajo (Estrada et al., 2013; Verbruggen et al., 2013), y los efectos de la inoculación con HMA son más evidentes y económicamente viables, en suelos de ambientes áridos, donde los nutrientes y los recursos hídricos son escasos (Vosátka et al., 2012; Williams et al., 2012). No obstante, el efecto benéfico de los HMA no sólo depende de que sean necesarios, si no también del genotipo de los organismos implicados y de las condiciones ambientales en las que interactúan (Klironomos 2003; Hoeksema et al. 2010).

La mayor parte de los trabajos donde se inoculan HMA han estudiado la influencia de las condiciones ambientales, de la disponibilidad de nutrientes (Klironomos, 2003; Doubková et al., 2013) y del manejo agronómico sobre la efectividad de los HMA (Trejo et al., 2011; Boonlue et al., 2012). Sin embargo, poco se conoce sobre el efecto de los genotipos de HMA en el crecimiento vegetal, a pesar de que éstos difieren en sus estrategias de crecimiento (Hart y Reader, 2002; López-García et al., 2014), eficiencia funcional, y en su influencia sobre el crecimiento y desarrollo vegetal (Klironomos, 2003; Doubková et al., 2013; Estrada et al., 2013).

El uso de HMA introducidos se ha promovido mediante la producción y aplicación de inóculos comerciales que comúnmente contienen sólo una especie de HMA (Schwartz et al., 2006;

Antunes et al., 2009; Pellegrino et al., 2011). Sin embargo, la aplicación de inóculos nativos se recomienda como alternativa al uso de las cepas introducidas que se encuentran en los productos comerciales (Tchabi et al., 2010; Pellegrino et al., 2011). En tanto que los HMA nativos contribuyen a la productividad y al funcionamiento de los ecosistemas (van der Heijden et al., 1998), y se cree que están mejor adaptados a las condiciones edafoclimáticas y de manejo de cultivos particulares (Klironomos 2003; Tchabi et al., 2010). Por otro lado, el uso de inóculos comerciales puede tener efectos negativos sobre la diversidad de HMA en los agroecosistemas (Antunes et al., 2009; Mummey et al. 2009; Pellegrino et al., 2011), por la introducción de patógenos asociados con los inóculos o porque las cepas introducidas se convierten en invasoras, al suprimir directa o indirectamente a las comunidades nativas de HMA (Schwartz et al., 2006; Tarbell y Koske 2007).

Los HMA nativos e introducidos se han utilizado para probar la hipótesis de que las especies nativas son más efectivas para promover el crecimiento vegetal (Klironomos, 2003; Williams et al., 2012). Los inóculos de HMA nativos mejoran el crecimiento, el rendimiento y la supervivencia de plantas como *Dioscorea rotundata* Poir, *Asteriscus maritimus* L. y *Podocarpus cunninghamii* Colenso, en comparación con los efectos de las cepas comerciales introducidas (Tchabi et al., 2010; Williams et al., 2012; Estrada et al., 2013). Además, la inoculación con HMA nativos favorece la actividad metabólica de las comunidades microbianas del suelo, lo que permite movilizar fósforo a partir de sustratos como la roca fosfórica (Ouahmane et al., 2007). No obstante, también se ha reportado que el crecimiento vegetal no está relacionado con la procedencia o tipo de inóculo de HMA; por ejemplo, en *Cupressus atlantica* G. y *Knautia arvensis* L. no se observaron diferencias significativas entre inóculos nativos e introducidos, en el rendimiento y en la absorción de P, Mg y Ca (Ouahmane et al., 2007; Doubková et al., 2013).

Con el fin de obtener el máximo beneficio de la simbiosis micorrízica, antes de hacer una inoculación en invernadero o campo, es necesario identificar o seleccionar a las especies o cepas de HMA más útiles para aumentar el crecimiento vegetal y la producción de los cultivos (Klironomos 2003; Tchabi et al., 2010; Williams et al., 2012); sin embargo, los sistemas de producción agrícola han prestado poca atención a esto (Sensoy et al., 2007).

Aunque se ha demostrado que los HMA nativos mejoran el crecimiento y la productividad de especies arbóreas y herbáceas, se desconoce el impacto de los HMA nativos e introducidos sobre especies hortícolas como el chile poblano. Por lo anterior, este estudio determinó el efecto de inóculos de HMA nativos e introducidos sobre el crecimiento y la nutrición del cultivo de chile poblano (*Capsicum annuum*).

6.2. MATERIALES Y MÉTODOS

6.2.1. Propagación de los inóculos de HMA

Los inóculos de HMA utilizados se obtuvieron a partir de tres fuentes: a) dos consorcios se seleccionaron a partir de muestras de campo de la rizósfera de chile poblano, referidos aquí como HMA nativos, el consorcio denominado como JCI contenía esporas de *Claroideoglobus claroideum*, *Funneliformis mosseae*, *Pacispora coralloidea* y *Diversispora* sp., mientras que el consorcio denominado SMZ contenía esporas de *C. claroideum*, *F. mosseae* y *Acaulospora scrobiculata*; b) una cepa de *C. claroideum* (170-TLX05) proporcionada por el Laboratorio de Micorrizas del Centro de Investigación en Ciencias Biológicas (CICB) de la Universidad Autónoma de Tlaxcala (aislada de suelo rizosférico de maíz en tepetate café en el Municipio Hueyotlipan, Tlaxcala); y c) un inóculo comercial con *Rhizophagus intraradices* (Biosustenta); de aquí en adelante, estas dos cepas serán consideradas como HMA introducidos.

Los consorcios nativos de HMA y *C. claroideum* se propagaron en cultivos trampa, utilizando bolsas para vivero de 2 kg de capacidad que contenían una mezcla de tepetate con arena (2:1, v/v) estéril como sustrato. Como plantas trampa se utilizaron chile poblano (*C. annuum*), sorgo (*Sorghum vulgare*) y frijol ayocote (*Phaseolus coccineus*) en policultivo, ya que son micotróficas, de ciclo de vida corto y producen buena cantidad de raíces (IJdo et al., 2011); al usar una mezcla de hospederos hay mayor disponibilidad de recursos para los HMA, lo que permite propagar mayor cantidad de esporas (Castillo et al., 2008; IJdo et al., 2011). Las macetas se mantuvieron en invernadero, se aplicaron riegos con agua destilada en intervalos de tres días, manteniendo los cultivos a capacidad de campo; la fertilización se hizo semanalmente añadiendo a cada maceta, 100 mL de solución nutritiva Long Ashton modificada para suministrar 10.25 µg de P mL⁻¹.

Después de seis meses, de establecer las macetas de propagación, se suspendió el riego, se cortaron las plantas y el suelo se dejó secar durante dos semanas, con el fin de estimular la esporulación de los HMA. Al término de este tiempo se extrajeron las raíces y se determinó el porcentaje de colonización, por el método de clareo y tinción con azul de tripano (Phillips y Hayman, 1970), seguida por la observación de segmentos de raíz montados en laminillas bajo microscopio compuesto (Brundrett et al., 1996). Las esporas de HMA se extrajeron por el método de tamizado húmedo y decantación (Gerdeman y Nicolson, 1963), seguida de centrifugación con gradiente de sacarosa al 20 y 60% (Sieverding, 1983).

6.2.2. Determinación de la efectividad de HMA de diferente origen en plantas de *C. annuum*

El experimento se llevó a cabo en los meses de junio y septiembre de 2015 en condiciones de invernadero (28° C y 65% de humedad relativa en promedio). Los tratamientos consistieron en un testigo absoluto (sin inocular y sin fertilizar), un tratamiento fertilizado pero sin inocular, dos consorcios nativos de HMA, y dos inóculos introducidos de HMA.

El sustrato para el establecimiento del experimento, fue una mezcla de tepetate con arena (2:1, v/v), con textura franco-arenosa, pH de 7.4, conductividad eléctrica de 0.11 dSm^{-1} , 0.09% de materia orgánica, 8.8 mg kg^{-1} de N-inorgánico, y 5.51 mg kg^{-1} de P-asimilable.

Se germinaron semillas de chile poblano, previamente desinfectadas con hipoclorito de sodio al 5%, en charolas de plástico transparentes con domo, utilizando una mezcla de turba con vermiculita (8:1, v/v) como sustrato estéril ($120 \text{ }^{\circ}\text{C}$ por 1 h, por dos días consecutivos y 48 h de aireación). Después de 40 días se llenaron macetas de 1L, a tres cuartos de su capacidad, con la mezcla previamente descrita; se agregaron los inóculos a evaluar (suelo de los inóculos con micelio extrarradical, raíces micorrizadas y 100 esporas de HMA). Se trasplantó una plántula de chile, de aproximadamente 9 cm de largo, cuyas raíces se cubrieron con 2 cm del sustrato estéril. En los tratamientos sin inocular se trasplantó una planta por maceta y se cubrió con 2 cm de sustrato estéril.

El riego se realizó con agua destilada en intervalos de tres días, manteniendo los cultivos a capacidad de campo; la fertilización se hizo semanalmente añadiendo a cada maceta 75 mL de solución nutritiva Long Ashton modificada para suministrar $10.25 \text{ } \mu\text{g}$ de P mL^{-1} . Todos los tratamientos se mantuvieron en invernadero a $28 \text{ }^{\circ}\text{C}$ y 65% de humedad relativa en promedio.

Después de 105 días, las plantas se cosecharon para determinar el contenido relativo de clorofila en tres hojas de la planta completamente expandidas, con un analizador de clorofila (SPAD-502, Japón, Minota); el diámetro del tallo y la altura de las plantas con un vernier digital; el área foliar mediante un integrador de área foliar (Área Meter, modelo LI-3100); la biomasa seca de la parte aérea y raíz, después de haber secado las plantas en un horno (FELISA, Modelo 242-A) a $70 \text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta alcanzar peso constante. El área foliar específica se estimó dividiendo el área foliar entre el peso seco de las hojas. Se determinó el número, peso fresco y seco de los frutos. La concentración de nitrógeno foliar se obtuvo mediante el método Kjeldahl y titulación con ácido

sulfúrico 0.005 N (Bremner, 1965); y las concentraciones de P y K usando un espectrofotómetro de emisión e inducción por plasma (Agilent 725 Series ICP-OES). El contenido de N, P y K foliar se estimó multiplicando la concentración de cada nutriente por el peso seco de las hojas. El porcentaje de colonización y el número de esporas se determinaron con base en los procedimientos previamente descritos (Brundrett et al., 1996; Gerdeman y Nicolson, 1963), para las macetas de propagación.

6.2.3. Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar, con seis tratamientos y 15 repeticiones cada uno, considerando 90 unidades experimentales en total. Los datos se sometieron al análisis de varianza y prueba de comparación de medias (Tukey, $\alpha=0.05$). La relación entre el porcentaje de colonización y las variables de crecimiento vegetal se realizó mediante un análisis de correlación con el paquete estadístico STATISTICA versión 9.0. Previo al análisis, los datos del porcentaje de colonización y el número de esporas se transformaron con la función arcoseno y \log_{10} , respectivamente, para ajustarlos a la distribución normal (Steel y Torrie, 1998). El análisis de varianza y la comparación de medias se hicieron con los datos transformados, pero los resultados se muestran en las unidades originales.

6.3. RESULTADOS

6.3.1. Efectividad de HMA de diferente origen en plantas de *C. annuum*

El efecto de la inoculación con HMA en el crecimiento de *C. annuum* se muestra en la Tabla 6.1. La inoculación con HMA promovió valores significativamente ($p \leq 0.05$) más altos para todas las variables de crecimiento en comparación con el testigo absoluto. Sin embargo, las plantas en el tratamiento fertilizado presentaron mayor diámetro de tallo (4.84 mm), biomasa total (6.95 g) y área foliar (991 cm²), seguido del tratamiento inoculado con el consorcio nativo SMZ. Las plantas inoculadas con *C. Claroideum* tuvieron mayor altura (63 cm) y contenido relativo de clorofila (67.7

unidades SPAD); mientras que *R. intraradices* aumentó el peso seco de raíz en las plantas, aunque sin mostrar diferencias significativas ($p \leq 0.05$) con respecto al tratamiento fertilizado (Tabla 6.1).

Tabla 6.1. Variables de crecimiento en plantas de chile poblano inoculadas con HMA de diferente origen en condiciones de invernadero.

Tratamientos	Clorofila	Diámetro del			Biomasa seca		Área foliar	Área foliar
	(unidades SPAD)	tallo (mm)	Altura (cm)	Raíz (g)	Parte aérea (g)	Total (g)	(cm ²)	específica (cm ²)
Testigo	28.54±0.93c	2.89±0.07c	29.27±0.86c	0.33±0.01c	0.95±0.04d	1.28±0.05d	105.92±4.19d	361.97±9.0a
Fertilizado	65.15±0.87ab	4.83±0.15a	55.92±2.10ab	0.87±0.07ab	6.08±0.34a	6.95±0.40a	990.85±46.5a	342.47±8.3a
<i>R. intraradices</i>	60.85±3.78ab	4.04±0.10b	56.23±2.47ab	0.97±0.08a	3.65±0.21bc	4.62±0.28bc	455.46±24.2c	287.46±5.9b
<i>C. claroideum</i>	67.69±0.94 ^a	4.02±0.10b	62.92±2.14a	0.86±0.06ab	4.08±0.17b	4.94±0.22b	507.38±16.3c	286.19±4.8b
Consortio JCI	58.64±1.14b	4.03±0.21b	53.91±1.71b	0.45±0.04c	3.12±0.21c	3.57±0.25c	520.82±25.8c	361.04±11.0a
Consortio SMZ	60.85±0.89ab	4.68±0.17a	60.38±1.71ab	0.73±0.04b	4.43±0.20b	5.16±0.23b	639.69±24.4b	326.23±10.9a

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey, $\alpha=0.05$). Media \pm el error estándar (n=15).

Todos los tratamientos inoculados con HMA aumentaron significativamente ($p \leq 0.05$) el contenido foliar de nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K) en comparación con el testigo absoluto. Sin embargo, el tratamiento fertilizado presentó el mayor contenido de N, P y K en las plantas, 181.5, 20.6 y 68.5 mg kg⁻¹ respectivamente. De los tratamientos inoculados con HMA, los consorcios nativos fueron mejores que los introducidos para la absorción de P; mientras que el consorcio nativo SMZ contribuyó de manera significativa ($p \leq 0.05$) al contenido N y K con respecto a los demás tratamientos inoculados (Figura 6.1).

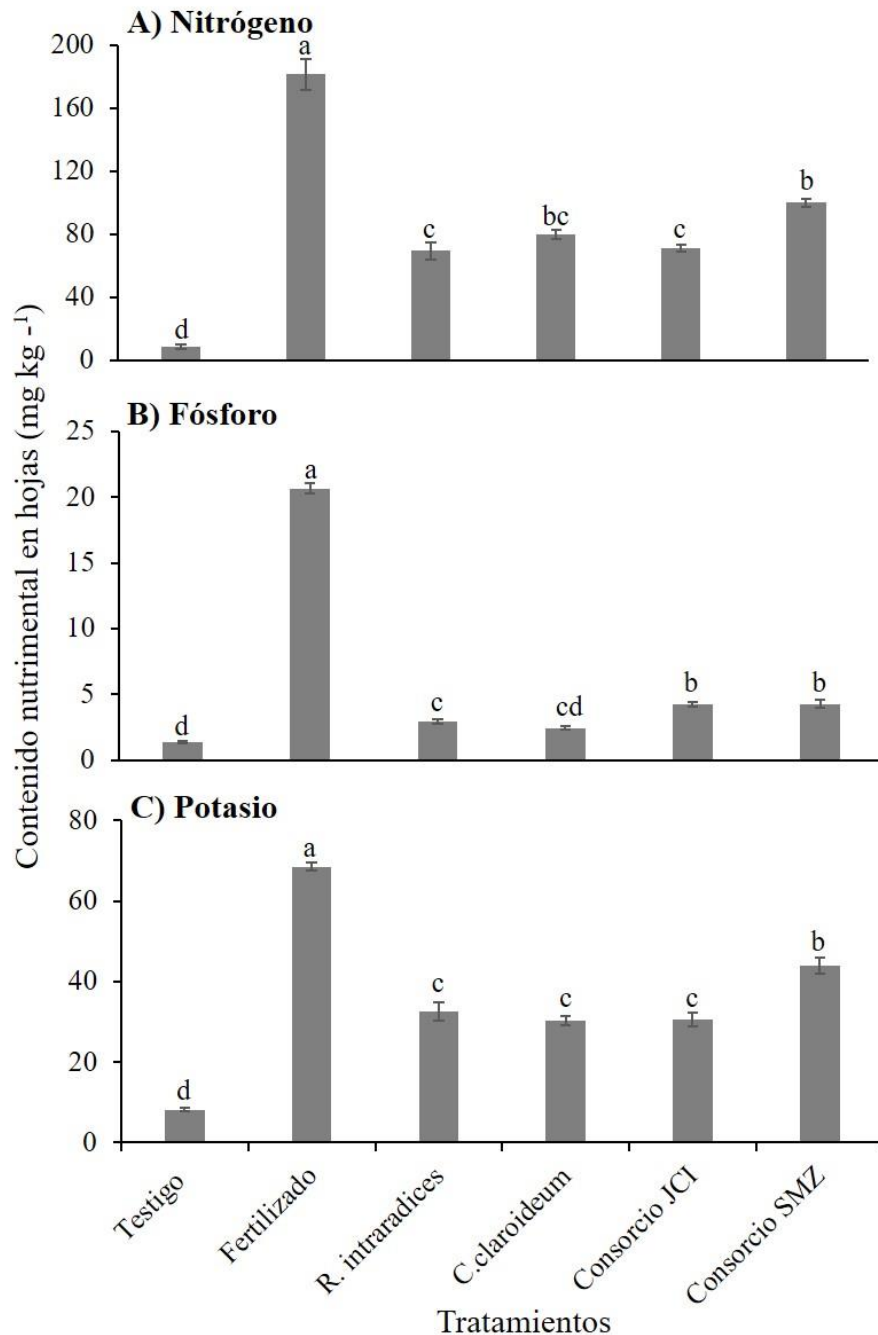


Figura 6.1. Contenido de N, P y K en tejido foliar de plantas de chile poblano inoculados con HMA de diferente origen. Medias con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey, $\alpha=0.05$). Media \pm el error estándar (n=4).

Las plantas en el tratamiento inoculado con el consorcio nativo SMZ presentaron mayor número de frutos (2.5 por planta), sin mostrar diferencias significativas ($p \leq 0.05$) con respecto a

los otros tratamientos inoculados. Las plantas en el tratamiento fertilizado tuvieron mayor peso fresco y seco de frutos. Las plantas del testigo absoluto mostraron siempre el menor número, peso fresco y seco de frutos (Figura 6.2).

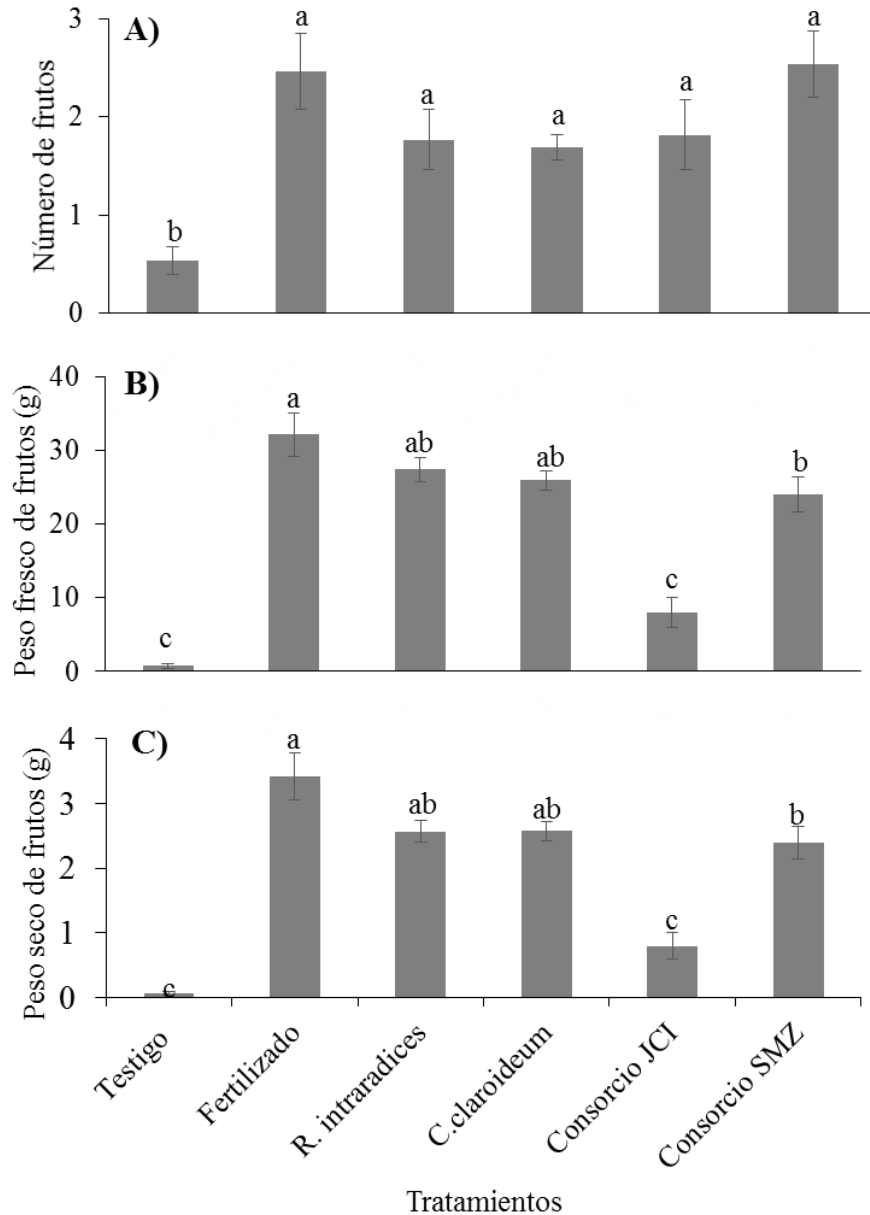


Figura 6.2. Efectividad de inóculos de HMA de diferente origen en la productividad de *C. annuum*. A) número de frutos, B) peso fresco de frutos y C) peso seco de frutos. Medias con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey, $\alpha=0.05$). Media \pm el error estándar (n=15).

6.3.2. Colonización micorrízica y número de esporas

La colonización micorrízica y el número de esporas variaron de 0 a 50% y, de 0 a 572 en 10 g de suelo⁻¹, respectivamente, mostrando diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre tratamientos. Los valores de colonización significativamente más altos se obtuvieron en las plantas inoculadas con el consorcio nativo JCI y con *R. intraradices*; este último, produjo el menor número de esporas. En contraste, las plantas inoculadas con el consorcio nativo SMZ mostraron el mayor número de esporas, pero el menor porcentaje de colonización. En los tratamientos sin inocular no se observaron esporas ni colonización micorrízica (Figura 6.3).

6.4. DISCUSIÓN

Los HMA son organismos importantes en la agricultura actual en relación con las diversas condiciones de estrés biótico y abiótico a las cuales están sometidos los cultivos agrícolas (Sensoy et al., 2007; Estrada et al., 2013; Garg y Pandey, 2015). Sin embargo, los agricultores generalmente usan inóculos comerciales porque en la mayoría de los casos, sólo tienen una especie de HMA, su aplicación es sencilla y el costo es bajo; caso contrario a los inóculos nativos de HMA que rara vez están caracterizados y requieren de su previa recolección, purificación y propagación (Mummey et al., 2009; Williams et al., 2012). A pesar de esto, la producción y uso de HMA nativos se recomienda como una alternativa a las cepas introducidas en los inóculos comerciales (Pellegrino et al., 2011), ya que la asociación de las plantas con HMA nativos origina respuestas positivas en el crecimiento vegetal; en contraste, cuando se usan HMA introducidos la respuesta del crecimiento generalmente es negativa (Klironomos, 2003; Tchabi et al., 2010; Estrada et al., 2013).

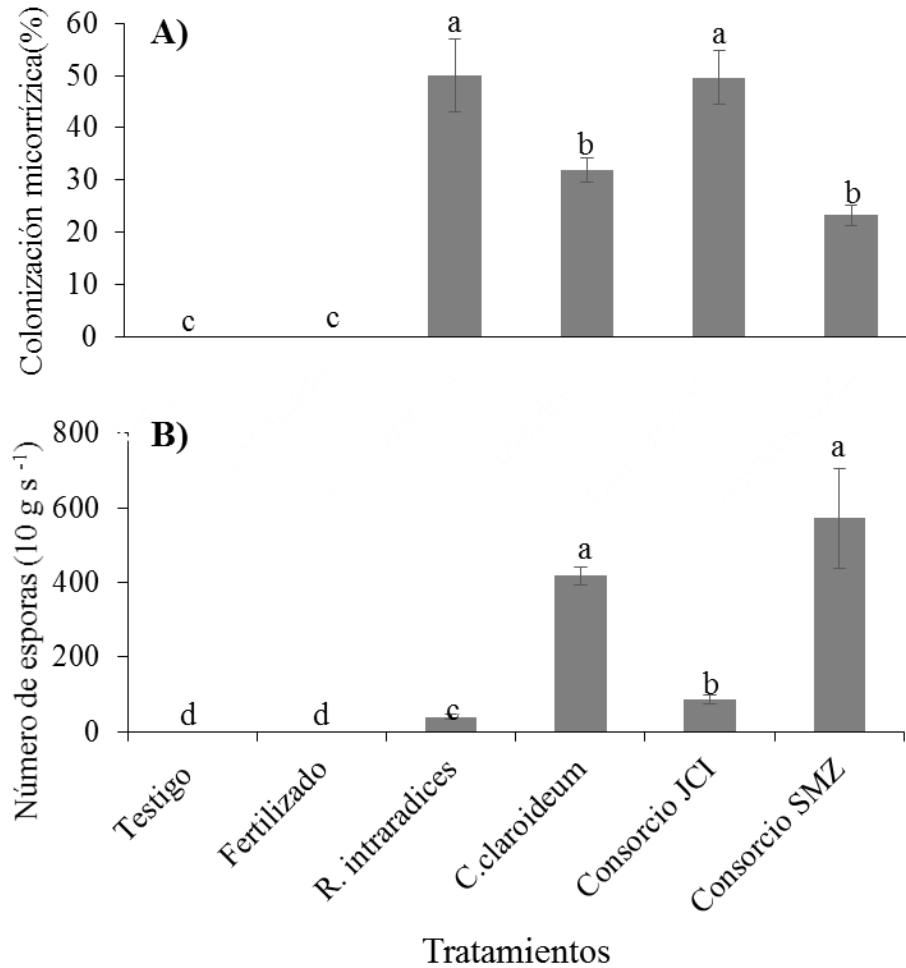


Figura 6.3. Colonización micorrízica (A) y número de esporas (B) en plantas de chile poblano inoculadas con HMA de diferente origen y crecidas en condiciones de invernadero. Medias con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey, $\alpha=0.05$). Media \pm el error estándar (n=15).

En este trabajo, los HMA tuvieron efectos positivos en el crecimiento, nutrición y fructificación de plantas de chile poblano, al igual que la fertilización química. Todos los inóculos de HMA mejoraron significativamente ($p \leq 0.05$) el desarrollo vegetal en comparación con el testigo absoluto; no obstante, las plantas del tratamiento fertilizado presentaron mayor crecimiento.

El consorcio nativo SMZ fue más efectivo, que las dos cepas de HMA introducidas, para promover el diámetro de tallo, el área foliar y el área foliar específica (Tabla 6.1), lo cual muestra que la simbiosis entre este consorcio y las plantas de chile poblano promueve la absorción de nutrientes, lo que se reflejó en el aumento del crecimiento y en la fructificación.

Aunque no hay estudios que comparen la efectividad de HMA nativos e introducidos en el cultivo de chile, en otras especies vegetales se ha reportado que los HMA nativos aumentan el peso de tubérculos de ñame (*Dioscorea rotundata*) en comparación con el control sin HMA, y con las cepas comerciales introducidas (Tchabi et al., 2010). Así mismo, Estrada et al. (2013) reportaron que las plantas de *Asteriscus maritimus* inoculadas con HMA nativos presentaron mayor peso seco de la parte aérea, y mayor supervivencia que las plantas inoculadas con HMA introducidos. En *Podocarpus cunninghamii* la inoculación con HMA nativos favoreció la supervivencia de las plantas en campo, y aumentó significativamente el crecimiento vegetal en condiciones de vivero y de campo (Williams et al., 2012).

Varios trabajos han reportado diversos efectos por diferentes especies de HMA sobre el crecimiento vegetal (Ouahmane et al., 2007; Tchabi et al., 2010; Estrada et al., 2013), lo que puede estar relacionado con la compatibilidad funcional entre los HMA y la planta hospedera. La variación en la compatibilidad funcional ya se ha registrado en especies y variedades de chile (Sensoy et al., 2007; Boonlue et al., 2012; Douds et al., 2012) así como en otros cultivos de importancia agrícola y forestal (Tchabi et al., 2010; Williams et al., 2012; Garg y Pandey, 2015).

El consorcio nativo SMZ promovió mayor contenido de nutrientes en las plantas de chile, produciendo plantas más vigorosas, con mayor diámetro de tallo y expansión foliar (Tabla 6. 1; Figura 6.1). Esto concuerda con lo encontrado en *Capsicum annuum* (Martin y Ztutz, 2004; Douds et al., 2012) y en *Dioscorea rotundata* (Tchabi et al., 2010). No obstante, contrasta con lo reportado

en *Trifolium alexandrinum*, *Zea mays* y *Knautia arvensis*, en donde no se observaron diferencias significativas en la absorción de nutrientes (P, N, Mg y Ca) por efecto de la inoculación de HMA nativos e introducidos (Pellegrino et al., 2011; Doubková et al., 2013; Garg y Pandey, 2015).

A pesar de que la asociación entre los HMA y las plantas se ha considerado inespecífica, esta relación está estrictamente regulada a nivel estructural y fisiológico (Kapoor et al., 2008; López-García et al., 2014) y depende de señales bioquímicas y genéticas específicas que se expresan durante todo el proceso de la simbiosis, permitiendo el reconocimiento, la colonización y el intercambio de nutrientes (Ramírez y Rodríguez, 2010; Smith y Smith, 2012). Por tanto, la diversidad funcional entre las especies de HMA y las plantas no sólo se observa a nivel de la formación de la simbiosis y de la absorción de nutrientes, sino también en la expresión de genes vegetales implicados en la captación de P y en la homeostasis de otros iones (Harrison, 2005; Tchabi et al., 2010; Estrada et al., 2013). Lo anterior puede explicar por qué los consorcios nativos, en particular el consorcio nativo SMZ, promovieron mayor contenido de nutrientes, y en consecuencia mayor crecimiento de las plantas de chille.

Una simbiosis más eficiente de los HMA nativos para promover el crecimiento y la productividad vegetal en comparación con las cepas introducidas, aún con bajos niveles de colonización, se ha reportada por Tchabi et al. (2010) y Estrada et al. (2013). En el presente trabajo, las plantas inoculadas con el consorcio nativo SMZ presentaron menor porcentaje de colonización, pero mayor crecimiento y nutrición en comparación con las cepas de HMA introducidas (*C. claroideum* y *R. intraradices*). Lo anterior sugiere que puede ser la composición de especies y la diversidad genética inherentes a los HMA más que la adaptabilidad a las condiciones ambientales y de cultivo las que influyen en la colonización y promoción del crecimiento vegetal, lo cual concuerda con lo reportado en otras especies vegetales (Sensoy et al., 2007; Tchabi et al., 2010).

Se ha sugerido que el uso de consorcios de HMA, como los usados en este trabajo, pueden ser más beneficiosos para el crecimiento de las plantas que el uso de especies individuales de HMA (Mena-Violante et al., 2006; Tchabi et al., 2010; Williams et al., 2013), debido a la complementariedad funcional entre las especies que integran al consorcio. En otros trabajos también se ha encontrado sinergismo intraespecífico, lo que sugiere que la complementariedad funcional no sólo ocurre entre diferentes especies de HMA, sino también dentro de la misma especie de HMA (Koch et al., 2011).

Las plantas inoculadas con la cepa comercial de *R. intraradices* presentaron un sistema radical más desarrollado y mayor colonización micorrízica; aunque tuvieron menor área foliar y contenido de N y P. En otras especies vegetales se ha reportado que la colonización intensa del sistema radical por los inóculos introducidos puede disminuir el crecimiento vegetal (Klironomos, 2003; Estrada et al., 2013) y el peso seco de tubérculos (Tchabi et al., 2010) debido al aumento en la demanda de carbohidratos por parte de los HMA. En contraste, las plantas inoculadas con el consorcio nativo SMZ presentaron menor peso seco de raíz, pero mayor biomasa aérea y número de frutos. La menor biomasa de raíces en comparación con la parte aérea en las plantas de chile micorrizadas con el consorcio nativo SMZ, indica un sistema radicular menos desarrollado y denso en respuesta a la micorrización, lo cual hace pensar que el micelio intrarradical de los HMA permite a la planta mayor traslocación de recursos entre las raíces colonizadas y las partes aéreas, y una absorción de agua y nutrientes más eficiente mediante el micelio externo, mejorando de esta manera las variables de crecimiento y de producción vegetal (Martin y Stutz, 2004; Garg y Pandey, 2015).

Las plantas del tratamiento fertilizado tuvieron mayor peso seco y fresco de frutos. Todas las plantas inoculadas mostraron mayor número, peso seco y fresco de frutos en comparación con

las plantas del testigo absoluto (Figura 6.2). Resultados similares fueron obtenidos en *C. annuum* (López-Gómez et al., 2015; Mena-Violante et al., 2006) y en cultivo de ñame *Dioscorea rotundata* (Tchabi et al., 2010).

Las plantas del tratamiento fertilizado presentaron mayor diámetro de tallo, biomasa total y área foliar. Los valores de número de frutos, y peso seco y fresco de frutos, obtenidos en plantas fertilizadas no difieren estadísticamente de los registrados en los tratamientos con HMA. La obtención de valores más altos para la mayoría de las variables agronómicas en las plantas fertilizadas puede explicarse porque el sistema de producción en el cultivo de chile poblano incluye la aplicación de agroquímicos, entre estos los fertilizantes, en altas dosis durante todo el periodo de cultivo (López-Gómez et al., 2015; Sánchez-Roque et al., 2016). Lo anterior sugiere que los HMA se pueden utilizar simultáneamente con dosis de fertilizantes más bajas a las empleadas en el tratamiento fertilizado y obtener resultados similares; con la ventaja de que se reducirían los costos de producción por la aplicación de fertilizantes y se disminuiría la subsecuente contaminación ambiental originada por la lixiviación de los agroquímicos.

6.5. CONCLUSIONES

Las plantas fertilizadas presentaron los promedios más altos para la mayoría de las variables agronómicas. El consorcio nativo SMZ fue más efectivo que las cepas de HMA introducidas para promover en las plantas mayor diámetro de tallo, área foliar, número de frutos y absorción de P y K. Estos resultados muestran la importancia de utilizar consorcios nativos como el consorcio SMZ para promover el crecimiento vegetal.

CAPÍTULO VII

DISCUSIÓN GENERAL DE RESULTADOS Y CONCLUSIONES GENERALES

La importancia que tienen los HMA para la diversidad y productividad de los agroecosistemas de Chile, ha recibido poca atención a pesar de su amplia distribución y de la función biológica que éstos desempeñan como simbioses mutualistas de dicha planta. En ecosistemas naturales y agrícolas se ha observado que la variación en la composición y en la diversidad de la comunidad de HMA, juega un papel importante en la estabilidad y en la productividad vegetal (van der Heijden et al., 1998; Hijri et al., 2006; Dandan y Zhiwei, 2007), lo cual está posiblemente relacionado con la diversidad funcional de los HMA (Eun-Hwa et al., 2013). Por tal razón, es importante entender cómo el manejo agrícola y las características del suelo influyen en las comunidades microbianas, especialmente en grupos funcionalmente importantes como los HMA. Este conocimiento permitirá a los productores implementar prácticas que promuevan una comunidad de HMA funcionalmente benéfica para las plantas de Chile y desarrollar agroecosistemas más sustentables y productivos (Bainard et al., 2014; Alguacil et al., 2014).

En este trabajo, la intensidad del manejo agronómico en los agroecosistemas de Chile poblano de Puebla, afectó la composición de morfoespecies y la estructura de la comunidad de HMA (*Capítulo IV*). Los agroecosistemas con poco y moderado manejo agronómico tuvieron una composición de morfoespecies de HMA significativamente diferente cuando se compararon con aquellos agroecosistemas con intenso manejo agronómico. Este último afectó a la comunidad de HMA, favoreciendo la dominancia de algunas morfoespecies y reduciendo la diversidad y la equidad de las comunidades de HMA. Estos resultados respaldan la hipótesis de que el manejo agronómico y las propiedades del suelo afectan significativamente la composición y la estructura de la comunidad de HMA en la rizósfera de *C. annuum*, ya que los agroecosistemas con manejo

agronómico intenso fueron menos favorables para las comunidades de HMA. Esto puede explicarse en parte, debido a que la aplicación continua de altas dosis de insumos químicos conduce no sólo a la pérdida de la diversidad morfológica y genética de los HMA, sino también de su diversidad funcional. La aplicación de insumos agrícolas, propicia que las especies de HMA poco tolerantes y con baja abundancia desaparezcan, mientras que las más abundantes y tolerantes dominen el agroecosistema, haciéndolo poco diverso (Oehl et al., 2004; Verbruggen et al., 2012); lo anterior haría menos productivo al agroecosistema y más susceptible a las perturbaciones ambientales, así como a plagas y enfermedades.

Los resultados del análisis de correspondencia canónica dan soporte a los datos obtenidos con los índices de similitud y de diversidad-dominancia, demostrando que las propiedades del suelo (disponibilidad de P y pH) y la intensidad del manejo agronómico, modifican significativamente la distribución, la composición y la diversidad de las comunidades de HMA. Al respecto, se ha observado que la disponibilidad de fósforo afecta negativamente la distribución de las especies y la composición de la comunidad de HMA (Oehl et al., 2010; Bainard et al., 2014; Jansa et al., 2014). Además, la materia orgánica, el pH y las propiedades químicas dependientes del pH son factores importantes que influyen en el porcentaje de colonización, el número de esporas, y la composición de especies de las comunidades de HMA en ecosistemas naturales y agrícolas (Hijri et al., 2006; Bainard et al. 2014). En general, las características del suelo y la intensidad del manejo agronómico son factores que deben considerarse al momento de analizar o comparar a las comunidades de HMA en los agroecosistemas.

Por lo anterior, es necesario conocer qué tan compatibles son los HMA inoculados con las condiciones ambientales locales y con las prácticas de manejo, ya que en los sistemas convencionales de producción del cultivo de chile poblano, existen prácticas (aplicación de

agroquímicos, labranza, uso de enmiendas orgánicas) que pueden inhibir el desarrollo de los HMA, sobre todo en la capa superficial del suelo (Siddiqui y Kataoka, 2011). En este trabajo, la efectividad de los consorcios nativos de HMA varió por efecto de la intensidad del manejo agronómico (*Capítulo V*). El consorcio SMZ (manejo moderado) promovió el crecimiento vegetal y la dependencia micorrízica por las plantas de chile, al observarse mejoras en la absorción de nutrientes. El consorcio SMCI (manejo intensivo) produjo la menor dependencia micorrízica para la acumulación de biomasa aérea seca y tuvo efecto negativo en el contenido foliar de P; en contraste, este consorcio benefició la absorción de N y K, y la producción de biomasa vegetal. Estos resultados apoyan la hipótesis planteada, ya que los inóculos de HMA obtenidos de agroecosistemas con manejo moderado fueron más efectivos como promotores del crecimiento y nutrición de las plantas de chile poblano.

El beneficio observado por el consorcio SMZ (manejo moderado) puede explicarse porque presentó la más diversa composición de morfoespecies y altos porcentajes de colonización, lo cual pudo favorecer el crecimiento y la nutrición vegetal (Douds, 2009; Trejo et al., 2011; Douds et al., 2012). Por otro lado, los valores más bajos, en las variables de crecimiento vegetal, registrados en las plantas inoculadas con el consorcio SMCI (manejo intensivo) pudieron deberse al bajo porcentaje de colonización, así como a su composición de morfoespecies de HMA, ya que las morfoespecies de HMA aisladas de los suelos con manejo agronómico intensivo, no siempre promueven el crecimiento vegetal (Oehl et al., 2004; Trejo et al., 2011).

En el experimento donde se inocularon los HMA de diferente procedencia (*Capítulo VI*), los tratamientos inoculados con HMA mostraron valores más altos para todas las variables de crecimiento con respecto al testigo absoluto. Esto demuestra la capacidad que tienen los HMA para absorber mayor cantidad de nutrientes y agua a través de su micelio extrarradical. Por otro

lado, las plantas fertilizadas presentaron los promedios más altos para la mayoría de las variables agronómicas. Lo anterior puede explicarse porque el sistema de producción en el cultivo de chile poblano incluye la aplicación de agroquímicos, incluidos los fertilizantes, en altas dosis durante todo el periodo de cultivo (López-Gómez et al., 2015; Sánchez-Roque et al., 2016).

El consorcio nativo SMZ fue más efectivo que las cepas de HMA introducidas para incrementar el diámetro de tallo, el área foliar y el contenido de P y K. Esto muestra que la simbiosis de este consorcio de HMA con las plantas de chile poblano, aumentó significativamente el contenido de nutrientes, reflejándose en el aumento del crecimiento y la fructificación. Lo anterior puede explicarse por la diversidad y complementariedad funcional entre las morfoespecies de HMA de este consorcio y las plantas de chile, lo cual hace más eficiente la captación de P y otros nutrientes.

El presente estudio demuestra la importancia de utilizar consorcios nativos de HMA para mejorar el crecimiento y la nutrición de las plantas de chile, y con ello, reducir el uso de fertilizantes (*Capítulo V*). Los resultados de las variables de crecimiento, nutrición y número de frutos (*Capítulos V y VI*) sugieren que el consorcio SMZ (manejo moderado), tiene mayor potencial para promover el crecimiento vegetal, debido al mejoramiento de la absorción de nutrientes. En consecuencia, su uso puede ser importante para desarrollar sistemas agrícolas sustentables.

La intensidad del manejo agronómico y algunas características del suelo afectaron negativamente la composición y la estructura de las comunidades de HMA en la rizósfera de chile poblano. Así mismo, la intensidad del manejo agronómico y la procedencia del inóculo de HMA afectaron significativamente la efectividad de HMA en el cultivo de chile poblano. Por lo anterior, antes de utilizar inóculos de HMA es necesario conocer la diversidad de especies nativas y

posteriormente, evaluar sus efectos en las plantas de interés para hacer más eficiente el manejo y la producción de los cultivos agrícolas, como el del chile poblano.

CAPÍTULO VIII

LITERATURA CITADA

- Alarcón, A., Hernández-Cuevas, L.V., Ferrera-Cerrato, R., Franco-Ramírez, A., 2012. Diversity and agricultural applications of arbuscular mycorrhizal fungi in México. *J Biofertil Biopestici*. 3:115-125.
- Alguacil, M. M., Torrecillas, E., García-Orenes, F., Roldán, A., 2014. Changes in the composition and diversity of AMF communities mediated by management practices in a Mediterranean soil are related with increases in soil biological activity. *Soil Biol Bioch*. 76: 34-44.
- Alonso-Contreras, R., Aguilera-Gómez, L., Rubí-Arriaga, M., González-Huerta, A., Olalde-Potugal, V., Rivas-Manzano, I., 2013. Influencia de hongos micorrícicos arbusculares en el crecimiento y desarrollo de *Capsicum annuum* L. *Rev Mex Cienc Agríc* 4: 77-88.
- Vosátka, M., Látr, A., Gianinazzi, S., Albrechtová, J., 2012. Development of arbuscular mycorrhizal biotechnology and industry: current achievements and bottlenecks. *Symbiosis* 58:29-37.
- Arias, R. M., Heredia-Abarca, G., Sosa, V., Fuentes-Ramírez, L., 2012. Diversity and abundance of arbuscular mycorrhizal fungi spores under different coffee production systems and in a tropical montane cloud forest patch in Veracruz, Mexico. *Agroforest Syst*. 85:179-193.
- Bainard, L. D., Bainard, J. D., Hamel, C., Gan, Y., 2014. Spatial and temporal structuring of arbuscular mycorrhizal communities is differentially influenced by abiotic factors and host crop in a semi-arid prairie agroecosystem. *FEMS Microb Ecol*. 88:333-344.
- Boonlue, S., Surapat, W., Pukahuta, C., Suwanarit, P., Suwanarit, A., Morinaga, T., 2012. Diversity and efficiency of arbuscular mycorrhizal fungi in soils from organic chili (*Capsicum frutescens*) farms. *Mycoscience*. 53:10-16.
- Brundrett, M., Bougher, N., Dell, B., Grove, T., Malajczuk, N., 1996. Working with mycorrhizas in forestry and agriculture. Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra.

- Brundrett, M., 2009. Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: understanding the global diversity of host plants by resolving conflicting information and developing reliable means of diagnosis. *Plant Soil*. 320:37-77.
- Burrows, R. L., Pfleger, F. L., 2002. Arbuscular mycorrhizal fungi respond to increasing plant diversity. *Can. J. Bot.* 80: 120E130.
- Carballar-Hernández, S., Palma-Cruz, F., Hernández Cuevas, L., Robles, C., 2013. Arbuscular mycorrhizal potential and mycorrhizal fungi diversity associated with *Agave potatorum* Zucc. in Oaxaca, Mexico. *Ecol Res.* 28: 217-226.
- Cardona, G., Peña-Venegas, C.P., Arcos, A., 2008. Ocurrencia de hongos formadores de micorriza arbuscular asociados a ají (*Capsicum* sp.) en la Amazonia colombiana. *Agro Colom.* 26: 459-470.
- Castellón-Martínez, E., Chávez-Servia, J. L., Carrillo-Rodríguez, J. C., Vera-Guzmán, A. M., 2012. Preferencias de consumo de chiles (*Capsicum annuum* L.) nativos en los valles centrales de Oaxaca, México. *Rev Fitotec Mex.* 35:27-35.
- Castillo, C., Astroza, I., Borie, F., Rubio, R., 2008. Efecto de cultivos hospederos y no hospederos sobre propágulos micorrícicos arbusculares. *R.C.Suelo Nutr. Veg.* 8: 37-54.
- Castillo, C., Rubio, R., Borie, F., Sieverding, E., 2010. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in horticultural production systems of southern Chile. *J. Soil Sci Plant Nutr.* 10: 407-413.
- Chen, K., Liu, W., Guo, S., Liu, R., Li, M., 2012. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in continuous cropping soils used for pepper production. *Afr J Microbiol Res.* 6:2469-2474.
- Coleman, C. D., Whitman, B. W., 2005. Linking species richness, biodiversity and ecosystem function in soil systems. *Pedobiologia.* 49: 479-497.
- Contreras, T. A., López S. H., Santacruz, V., Valadez M., Aguilar, R. V., Corona T., López, A., 2011. Diversidad genética en México de variedades nativas de chile ‘poblano’ mediante microsatélites. *Rev Fitotec Mex.* 34: 225-232.
- Constantino, M., Gómez-Álvarez, R., Álvarez-Solís, J. D., Geissen, Y., Huerta, E., Barba, E. 2008. Effect of inoculation with rhizobacteria and arbuscular mycorrhizal fungi on growth and yield of *Capsicum chinense* Jacquin. *J Agri Rural Dev in the Trop and Subtrop.* 109: 169-180.
- Dandan, Z., Zhiwei, Z., 2007. Biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in the hot-dry valley of the Jinsha River, southwest China. *Appl Soil Ecol.* 37: 118-128.

- Díaz-Francés, E., Soberón, J., 2005. Statistical estimation and model selection of species-accumulation functions. *Conserv Biol.* 19:569-573.
- Doubková, P., Kohout, P., Sudová, R., 2013. Soil nutritional status, not inoculum identity, primarily determines the effect of arbuscular mycorrhizal fungi on the growth of *Knautia arvensis* plants. *Mycorrhiza.* 23:561-572
- Douds, D., 2009. Utilization of inoculum produced on-farm for production of AM fungus colonized pepper and tomato seedlings under conventional management. *Biol Agric and Hort.* 26:353-364.
- Douds, D. D., Lee, J., Rogers, L., Lohman, M. E., Pinzon, N., Ganser, S., 2012. Utilization of inoculum of AM fungi produced on-farm for the production of *Capsicum annuum*: A summary of seven years of field trials on a conventional vegetable farm. *Biol Agri Hort.* 28: 129-145.
- Estrada, B., Aroca, R., Azcón-Aguilar, C., Barea, J., Ruiz-Lozano, J. M., 2013. Importance of native arbuscular mycorrhizal inoculation in the halophyte *Asteriscus maritimus* for successful establishment and growth under saline conditions. *Plant Soil* 370:175-185.
- Eun-Hwa, L., Ju-Kyeong, E., Kang-Hyeon, K., Ahn-Heum, E., 2013. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi and their roles in ecosystems *Mycobiology.* 41: 121-125.
- Finlay, R. D., 2008. Ecological aspects of mycorrhizal symbiosis: with special emphasis on the functional diversity of interactions involving the extraradical mycelium. *J of Exp Bot.* 59: 1115-1126.
- Garg, N., Pandey, R., 2015. Effectiveness of native and exotic arbuscular mycorrhizal fungi on nutrient uptake and ion homeostasis in salt-stressed *Cajanus cajan* L. (Millsp.) genotypes. *Mycorrhiza* 25:165-180.
- Gianinazzi, S., Gollotte, A., Binet, M. N., van Tuinen, D., Redecker, D., Wipf, D., 2010. Agroecology: the key role of arbuscular mycorrhizas in ecosystem services. *Mycorrhiza.* 20:519–530.
- Gerdeman, J. W., Nicolson, T. H., 1963. Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Trans Br Mycol Soc.* 46: 235-244.
- González-Cortes, J. C., Vega-Fraga, M., Varela-Fregoso, L., Martínez-Trujillo, M., Carreon-Abud, J., Gavito, M. E., 2012. Arbuscular mycorrhizal fungal (AMF) communities and

- land use change: the conversion of temperate forests to avocado plantations and maize fields in central Mexico. *Fungal Ecol.* 5: 16-23.
- Harrison, M., 2005. Signaling in the Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis. *Annu. Rev. Microbiol.* 59:19-42.
- Hart, M. M., Reader, R. J., 2002. Taxonomic basis for variation in the colonization strategy of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.* 153: 335-344.
- Hijri, I., Zuzana, S. Korová, Y., Oehl, F., Ineichen, K., Mäder, P., Wiemken, A., Redecker, D., 2006. Communities of arbuscular mycorrhizal fungi in arable soils are not necessarily low in diversity. *Mol Ecol.* 15: 2277-2289.
- Hoeksema, D. J., Chaudhary, V. B., Gehring, C. A., Collins, J. N., Karst, J., Koide, T. R., Pringle, A., Zabinski, C., Bever, D. J., Moore, C. J., Wilson, W. T., Klironomos, J., Umbanhowar, J., 2010. A meta-analysis of context-dependency in plant response to inoculation with mycorrhizal fungi. *Ecol Lett.* 13: 394-407.
- Ijdo, M., Cranenbrouck, S., Declerck, S., 2011. Methods for large-scale production of AM fungi: past, present, and future. *Mycorrhiza* 21:1–16.
- INEGI., 1997. Síntesis geográfica, nomenclátor y anexo cartográfico del Estado de Puebla. México, D.F. 56 p.
- Jansa, J., Erb, A., Hans-Rudolf, O., Šmilauer, P., Egli, S., 2014. Soil and geography are more important determinants of indigenous arbuscular mycorrhizal communities than management practices in Swiss agricultural soils. *Mol Ecol.* 23: 2118-2135.
- Jiménez-Valverde, A., Hortal, J., 2000. Las curvas de acumulación de especies y la necesidad de evaluar los inventarios biológicos. *R Ibérica Arac.* 8:151-161.
- Kapoor, R., Sharma, D., Bhatnagar, A. K., 2008. Arbuscular mycorrhizae in micropropagation systems and their potential applications. *Sci Hort.* 116: 227-239.
- Kaya, C., Ashraf, M., Sonmez, O., Aydemir, S., Levent, T. L., Ali, C., 2009. The influence of arbuscular mycorrhizal colonisation on key growth parameters and fruit yield of pepper plants grown at high salinity. *Sci Hort.* 121:1-6
- Kim, K., Yim, W., Trivedi, P., Madhaiyan, M., Deka, P., Rashedul, I., Lee, G., Sa, T., 2010. Synergistic effects of inoculating arbuscular mycorrhizal fungi and *Methylobacterium oryzae* strains on growth and nutrient uptake of red pepper (*Capsicum annuum* L.). *Plant Soil.* 327:429-440.

- Kivlin, S. N., Hawkes, C., Treseder, K., 2011. Global diversity and distribution of arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biol Bioch.* 43: 2294-2303.
- Klironomos, J., 2003. Variation in plant response to native and exotic arbuscular mycorrhizal. *Fungi Ecol.* 84:2292-2301.
- Koch, A., Antunes, P. M., Barto, K. E., Cipollini, D., Mummey, D. L., Klironomos, J., 2011. The effects of arbuscular mycorrhizal (AM) fungal and garlic mustard introductions on native AM fungal diversity. *Biol Invasions.* 13:1627-1639.
- Long, T. J., 2011. El *Capsicum* a través de la historia mexicana. Fundación Hérdex A. C. México.
- López, R., 2003. Chilli, la especie del nuevo mundo. *Ciencias.* 69:66-75.
- López-García, A., Palenzuela, J., Barea, J.M., Azcón-Aguilar, C., 2014. Life-history strategies of arbuscular mycorrhizal fungi determine succession into roots of *Rosmarinus officinalis* L., a characteristic woody perennial plant species from Mediterranean ecosystems. *Plant Soil* 379:247-260.
- López-Gómez, B. F., Alarcón, A., Quintero-Lizaloe, R., Lara-Herrera, A., 2015. Selección de cepas de hongos micorrízicos arbusculares en dos sistemas de producción de chile. *Rev Mex Cien Agr.* 6: 1203-1214.
- Li, H. Y., Smith, S. E., Holloway, R. E., Zhu, Y., Smith, F. A., 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi contribute to phosphorus uptake by wheat grown in a phosphorus-fixing soil even in the absence of positive growth responses. *New Phytol.* 172:536-543.
- Mace, G. M., Norris, K., Alastair, H. F., 2012. Biodiversity and ecosystem services: a multilayered relationship. *Trends in Ecol Evo.* 27:19-26.
- Magurran, A. E., 1988. *Ecological diversity and its measurement.* Princeton University Press, Princeton.
- Martin, C., Ztutz, J., 2004. Interactive effects of temperature and arbuscular mycorrhizal fungi on growth, P uptake and root respiration of *Capsicum annuum* L. *Mycorrhiza* 14:241-244.
- Mena-Violante, H., Ocampo-Jiménez, O., Dendooven, L., Martínez-Soto, G., González-Castañeda, J., Davies, F., Olalde-Portugal, V., 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi enhance fruit growth and quality of chile ancho (*Capsicum annuum* L. cv San Luis) plants exposed to drought. *Mycorrhiza.* 16: 261-267.

- Morán-Bañuelos, S., Aguilar-Rincón, H., Corona-Torres, T., Castillo-González, F., Soto-Hernández, M., Miguel-Chávez, M., 2008. Capsaicinoides en chiles nativos de Puebla, México. *Agrociencia*. 42: 807-816.
- Mummey, D. L., Antunes, P. M., Rillig, M., 2009. Arbuscular mycorrhizal fungi pre-inoculant identity determines community composition in roots. *Soil Biol Bioch*. 41:1173-1179.
- Oehl, F., Sieverding, E., Mäder, P., Dubois, D., Ineichen, K., Boller, T., Wiemken, A., 2004. Impact of long-term conventional and organic farming on the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi. *Oecologia*. 138: 574-583.
- Oehl, F., Sieverding, E., Ineichen, K., Mader, P., Wiemken, A., Boller, T., 2009. Distinct sporulation dynamics of arbuscular mycorrhizal fungal communities from different agroecosystems in long-term microcosms. *Agri Ecosyst Environ*. 134:257-268.
- Oehl, F., Laczko, E., Bogenrieder, A., Stahr, K., Bösch, V., van der Heijden, M., Sieverding, E., 2010. Soil type and land use intensity determine the composition of arbuscular mycorrhizal fungal communities. *Soil Biol Bioch*. 42: 724-738.
- Ouahmane, L., Thioulouse, J., Hafidi, M., Prin, Y., Ducouso, M., Galiana, A., Plenchette, C., Kisa, M., Duponnois, R., 2007. Soil functional diversity and P solubilization from rock phosphate after inoculation with native or allochthonous arbuscular mycorrhizal fungi. *For Ecol Manag*. 241: 200-208.
- Öpik, M., Moora, M., 2012. Missing nodes and links in mycorrhizal networks. *New Phytol*. 194: 304-306.
- Parniske, M., 2008. Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. *Nature Rev Microbiol*. 6:763-755.
- Pellegrino, E., Stefano, B., Avio, L., Bonari, E., Giovannetti, M., 2011. Field inoculation effectiveness of native and exotic arbuscular mycorrhizal fungi in a Mediterranean agricultural soil. *Soil Biol and Bioch*. 43: 367-376.
- Phillips, D. A., 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* 55:158-161.
- Piñero, D., Caballero-Mellado, J., Cabrera-Toledo, D., Canteros, C., Casas, A., Castañeda, A., Castillo, A., Cerritos, R., Chassin-Noria, O., Colunga-García, M., Delgado, P., Díaz-Jaimes, P., 2008. La diversidad genética como instrumento para la conservación y el

- aprovechamiento de la biodiversidad: estudios en especies mexicanas, in: Soberon, J., Halffter, G., Llorente-Bousquets, J. (Com.), Capital natural de México, vol. I. Conocimiento actual de la biodiversidad. Conabio, México, pp. 437-494.
- Quiñones-Aguilar, E., López-Pérez, L., Rincón-Enríquez, G., 2014. Dinámica del crecimiento de papaya por efecto de la inoculación micorrízica y fertilización con fósforo. *Rev Chap Ser Hort.* 20: 223-237.
- Ramírez, G. M., Rodríguez, V. A., 2010. Señales de reconocimiento entre plantas y hongos formadores de micorrizas arbusculares. *Corpoica Cienc. Tecnol. Agropecu.* 11:53-60.
- Robles, C., Robles-Martínez, M. L., Monroy-Díaz, F. B., 2008. Crecimiento y nutrición del maguey mezcalero (*Agave angustifolia* Haw.) bajo condiciones de micorrización arbuscular, in: Montañón N. M., Camargo-Ricalde, S. L., García-Sánchez, R., Monroy-Ata, A. (Eds), *Micorrizas arbusculares en ecosistemas áridos y semiáridos*. Mundi-Prensa, Instituto Nacional de Ecología-SEMARNAT, UAM-Iztapalapa, FES Zaragoza-UNAM, México, pp. 217-233.
- Rodríguez, J., Peña, O. B., Muñoz, A., Martínez, C. B., Manzo, F., Salazar, L., 2007. Rescate in situ del chile “poblano” en Puebla, México. *Rev Fitotec Mex.* 30: 25-32.
- Rohrig, B., 2014. Chili picante: muy picante. *Chematters*.
- Sánchez-Roque Y., Pérez-Luna Y., Becerra-Lucio A., Álvarez-Gutiérrez P., Pérez-Luna E., González-Mendoza D., Canseco-Pérez M., Saldaña-Trinidad S., Berrones Hernández R., 2016. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi in the development of cultivars of Chili. *Int J Adv Agric Res.* 4:10-15.
- SEMARNAT. 2002. Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000 que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales. México DF.
- Schüßler, A., Walker, C., 2010. *The Glomeromycota: A species list with new families and new genera*. The Royal Botanic Garden. England. 56 p.
- Schwartz, W. M., Hoeksema, D. J., Gehring, A. C., Johnson, C. N., Klironomos, J., Abbott, K., Pringle, A., 2006. The promise and the potential consequences of the global transport of mycorrhizal fungal inoculum. *Ecol Let.* 9:501-515.

- Sensoy, S., Demir, S., Turkmen, O., Erdinc, C., Savur, B., 2007. Responses of some different pepper (*Capsicum annuum* L.) genotypes to inoculation with two different arbuscular mycorrhizal fungi. *Sci Hort.* 113: 92-95.
- Sieverding, E., 1983. Manual de métodos para la investigación de la micorriza vesículo-arbuscular en el laboratorio. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali, Colombia.
- Soberón, J., Llorente, J., 1993. The use of species accumulation functions for the prediction of species richness. *Conserv Biol.* 7:480-488.
- Smith, F., Smith, S. E., 2011. What is the significance of the arbuscular mycorrhizal colonisation of many economically important crop plants? *Plant Soil.* 348:63-79
- Smith, S. E., Smith, F., 2012. Fresh perspectives on the roles of arbuscular mycorrhizal fungi in plant nutrition and growth. *Mycologia.* 104: 1-13.
- Steel, R. G., Torrie, J. H. 1988. Bioestadística: principios y procedimientos. McGraw-Hill, México. D.F.
- Tarbell, T. J., Koske, R. E., 2007. Evaluation of commercial arbuscular mycorrhizal inocula in a sand/peat médium. *Mycorrhiza* 18:51-56.
- Tchabi, A., Coyne, D., Hountondji, F., Lawouin, L., Wiemken, A., Oehl, F., 2010. Efficacy of indigenous arbuscular mycorrhizal fungi for promoting white yam (*Dioscorea rotundata*) growth in West Africa. *Appl Soil Ecol.* 45:92-100.
- Trejo, D., Ferrera-Cerrato, R., García, R., Varela, L., Lara, L., Alarcón, A., 2011. Efectividad de siete consorcios nativos de hongos micorrízicos arbusculares en plantas de café en condiciones de invernadero y campo. *R Ch Hist Nat.* 84: 23-31.
- Treseder, K., Cross, A., 2006. Global distributions of arbuscular mycorrhizal fungi. *Ecosystems.* 9: 305-316.
- van der Heijden, G. A., Klironomos, J. N., Ursic, M., Moutoglis, P., Streitwolf-Engel, R., Boller, T., Wiemken, A., Sanders, I. R., 1998. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature.* 396: 69-72.
- Vays, M., Vays, A., 2012. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi associated with rhizosphere of *Capsicum annuum* in western Rajasthan. *Int J Plant Animal Environ Sci.* 2: 256-262.
- Verbruggen, E., Kiers T., 2010. Evolutionary ecology of mycorrhizal functional diversity in agricultural systems. *Evol Appl.* 3:547-560.

- Verbruggen, E., van der Hijden, M., Weedon, J., Kowalchuk, G. A., Røining, W., 2012. Community assembly, species richness and nestedness of arbuscular mycorrhizal fungi in agricultural soils. *Mol Ecol.* 21: 2341-2353.
- Vosátka, M., Látr, A., Gianinazzi, S., Albrechtová, J., 2012. Development of arbuscular mycorrhizal biotechnology and industry: current achievements and bottlenecks. *Symbiosis* 58:29-37.
- Williams, A., Ridgway, J. H., Norton, A. D., 2013. Different arbuscular mycorrhizae and competition with an exotic grass affect the growth of *Podocarpus cunninghamii* Colenso cuttings. *New Forests* 44:183–195.

ANEXO 1

Agriculture, Ecosystems and Environment 245 (2017) 43–51



Contents lists available at ScienceDirect

Agriculture, Ecosystems and Environment

journal homepage: www.elsevier.com/locate/agee



Research Paper

Native communities of arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Capsicum annuum* L. respond to soil properties and agronomic management under field conditions[☆]



Santos Carballar-Hernández^a, Laura Verónica Hernández-Cuevas^b, Noé Manuel Montaña^c, John Larsen^d, Ronald Ferrera-Cerrato^a, Oswaldo R. Taboada-Gaytán^e, Alba Mónica Montiel-González^b, Alejandro Alarcón^{a,*}

^a Microbiología de Suelos, Posgrado de Edafología, Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Carretera México-Texcoco km. 36.5, Montecillo, 56230, Estado de México, Mexico

^b Centro de Investigación en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala, Autopista Texmelucan-Tlaxcala km. 10.5, Ixtacuixtla, 90122, Tlaxcala, Mexico

^c Departamento de Biología, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Av. San Rafael Atlitxco, 186, col. Vicentina, 09340, Iztapalapa, D. F., Mexico

^d Laboratorio de Agroecología, Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad-Morelia, Universidad Nacional Autónoma de México, Apartado postal 27-3, Santa María de Guído, 58090, Morelia, Mexico

^e Colegio de Postgraduados, Campus Puebla. Carretera Federal México-Puebla km. 125.5, Santiago Momoxpan, San Pedro Cholula, 72760, Puebla, Mexico

ARTICLE INFO

Keywords:

Glomeromycota
Species richness
Phosphorus
pH
Pepper
Field conditions
Agroecosystems

ABSTRACT

We examined the effects of agronomic management (low, moderate, and high inputs) and soil properties on arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) community structure collected from the rhizosphere of *Capsicum annuum* cultivated in six agroecosystems in Mexico. Chemical and physical soil parameters differed among agroecosystems. Native communities of AMF-morphospecies differed between agroecosystems depending on intensity of agronomic practice. In total 33 AMF-morphospecies were identified (11 genera, and seven families). Soil P availability and pH negatively affected the distribution and abundance of the AMF species. High input management resulted in significant modifications in the composition and structure of the AMF communities. Agroecosystems with high or moderate input management showed 35% less AMF-morphospecies when compared to low input management systems. The most diverse AMF community was observed from agroecosystems with either moderate or low input management. *Funneliformis geosporum*, *Claroideoglossum claroideum* and *C. luteum* were the predominant species observed in this study. High similarity (> 75%) in the structure of AMF communities among agroecosystems was found, which suggest that the observed differences between AMF communities from agroecosystems with high input management compared to that from low and moderate input management, may be due to changes in species composition.

1. Introduction

Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) are essential for the functioning and sustainability of agroecosystems (Parniske, 2008; Verbruggen and Kiers, 2010; Gianinazzi et al., 2010). Most crops form symbiotic associations with AMF, and have been reported to improve crop nutrition and health (Brundrett, 2009; Kivlin et al., 2011; Alarcón et al., 2012). The abundance and species composition of AMF may be a key factor in determining crop growth, performance, and yield (Klironomos, 2003; Oehl et al., 2010; Verbruggen and Kiers, 2010;

Koch et al., 2011; Verbruggen et al., 2012).

Environmental conditions including soil characteristics and agronomic management practices, affect the abundance, diversity, and traits of AMF within the soil system (Hoeksema et al., 2010; Oehl et al., 2010; Jansa et al., 2014). Soil phosphorus availability is a critical factor for AMF in terms of both root and soil colonization, for instance, high soil phosphorus availability reduces AMF effectiveness and diversity (Oehl et al., 2010; Bainard et al., 2014). While, soil organic matter seems to promote AMF activity in terms of root and soil colonization (Cardona et al., 2008; Vays and Vays, 2012; Alguacil et al., 2014). Other physical

Abbreviations: SM, San Martinito; JCI and JCII, Juárez Coronaco I and II; SMZ, Santa María Zacatepec; SMC I and SMC II, San Mateo Capultitlán I and II

[☆] Native communities of arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Capsicum annuum* L. respond to soil properties and agronomic management under field conditions

* Corresponding author.

E-mail address: aalarconcp@gmail.com (A. Alarcón).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2017.05.004>

Received 6 July 2016; Received in revised form 12 March 2017; Accepted 5 May 2017
0167-8809/ © 2017 Published by Elsevier B.V.