



Consortios de hongos micorrízicos y rizobacterias en el control biológico de *Phytophthora capsici* en cultivares de *Capsicum annuum*

Consortia of mycorrhizal fungi and rhizobacteria in the biological control of *Phytophthora capsici* in *Capsicum annuum* cultivars

Lucio Leos-Escobedo¹, Mario García-Carrillo¹, Julian Delgadillo-Martínez², Ana Alejandra Valenzuela García³, Azareel Angulo-Castro⁴, Pablo Preciado-Rangel⁵, Edgar Omar Rueda Puente^{6*}

¹ Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Regional Laguna. Periférico y carretera a Santa Fe, CP. 27000. Torreón, Coahuila, México.

² Colegio de Posgraduados en Ciencias Agrícolas. Carretera México-Texcoco, Km 35.5, CP. 56230. Montecillo, Texcoco, estado de México.

³ Universidad Juárez del Estado de Durango, Facultad de Agricultura y Zootecnia. Carretera Gómez Palacio-Tlahualilo km.32. C.P. 34000. Gómez Palacio, Durango, México.

⁴ Facultad de Agronomía. Universidad Autónoma de Sinaloa. Carretera Culiacán-el Dorado Km 17.5. CP. 80000. Culiacán Rosales, Sinaloa, México.

⁵ Tecnológico Nacional de México, Campus Instituto Tecnológico de Torreón (TecNm-ITT), Antigua Carretera Torreón-San Pedro km 7.5, C.P. 27170. Torreón, Coahuila, México.

⁶ Departamento de Agricultura y Ganadería, Universidad de Sonora, Boulevard Luis Encinas y Rosales s/n, Colonia Centro, C.P. 83000. Hermosillo, Sonora México.

RESUMEN

La reconversión de la agricultura, demanda alternativas sustentables entre los que destacan el uso de hongos rizosféricos =hongos micorrízicos arbusculares (HMA) y las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (Rpcv). El objetivo general de la presente investigación consistió en evaluar consorcios de hongos micorrízicos y rizobacterias como control biológico vs *Phytophthora capsici*, en cultivares de chile (*Capsicum annuum* L.). Se evaluaron 23 genotipos de chiles. Los HMA que conformaron el consorcio fueron: seis cepas de *Rhizophagus intraradices*. Asimismo, se incluyeron cuatro Rpcv, dos del género *Pseudomonas*, *Acinetobacter guillouiae* y *Aeromona caviae*. Los tratamientos de estudio fueron cuatro: T1= Testigo (Sin aporte nutrimental (agua)), T2= Consorcio = (mezcla) de los seis HMA, T3= Consorcio de seis HMA más el consorcio de cuatro Rpcv, T4= Fertilización química a base una solución nutrimental. Se incrementó la resistencia de plantas al ataque de *P. capsici*, resultando en una reducción en su capacidad de ataque, en plantas de 23 cultivares de chile. Los cultivares de chiles tipo Pasilla y tipo Guajillo, presentaron la mayor resistencia al ataque de *P. capsici*, cuando fueron inoculados con HMA+Rpcv, mientras que los chiles tipo Serrano, Puya y Jalapeño, fueron los de mayor susceptibilidad al ataque del hongo fitopatógeno.

Palabras clave: Micorrizas, secadera del chile, fitopatógenos, control biológico.

ABSTRACT

The reconversion of agriculture demands sustainable alternatives, among which the use of rhizospheric fungi = arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and plant growth-promoting rhizobacteria (Rpcv) stand out. The general objective

of the present investigation was to evaluate consortiums of mycorrhizal fungi and rhizobacteria as biological control vs *Phytophthora capsici*, in cultivars of 23 genotypes of chili peppers. The AMF that made up the consortium were: six strains of *Rhizophagus intraradices*. Likewise, four strains of Rpcv, three of the *Pseudomonas* genus, *Acinetobacter guillouiae* and *Aeromona caviae*. The study treatments were four: T1 = Control (No nutritional contribution (water)), T2 = Consortium = (mixture) of the six AMF, T3 = Consortium of six AMF plus the consortium of four Rpcv, T4 = Chemical fertilization based on a nutrient solution. The plants resistance to the *P. capsici* attack increased, resulting in a reduction in the fungus attack capacity in plants of 23 cultivars of chile. The Pasilla-type and Guajillo-type chili cultivars presented the highest resistance to the attack of *P. capsici*, when inoculated with AMF + Rpcv, while the Serrano, Puya and Jalapeño-type chilies were the ones with the highest susceptibility to the attack of the phytopathogenic fungus.

Key words: Mycorrhizae, chilli drier, phytopathogens, biological control.

INTRODUCCIÓN

Un factor primordial en la pérdida de cultivos de interés agrícola es por problemas fitosanitarios, principalmente por aquellas ocasionadas por fitopatógenos durante el desarrollo de la planta (Ritz *et al.*, 2015). Entre los agentes causales, destacan los hongos y bacterias, los cuales, generan pérdidas de hasta un 80% en un sistema de producción agrícola, cuando éstas no son tratadas con eficacia y en condiciones favorables para los patógenos. En la República Mexicana, el cultivo de chile (*Capsicum annuum* L.) es de una

*Autor para correspondencia: Edgar Omar Rueda Puente
Correo electrónico: erueda04@santana.uson.mx

Recibido: 22 de abril de 2021

Aceptado: 24 de noviembre de 2021

gran importancia por el aspecto económico que genera, el social y el alimenticio; sin embargo, un problema fitosanitario que afecta a su producción, es la enfermedad denominada marchitez del chile, que puede generar pérdidas económicas hasta en un 76% en estado de germinación y plántula, y hasta en un 93% cuando la planta es afectada en la fase de floración (Pérez-Acevedo *et al.*, 2017), considerando condiciones del ambiente favorable para el patógeno, como las de alta humedad ambiental y también a nivel de suelo, además de una falta de prácticas de manejo inadecuadas (Guigón-López y González-González, 2001). La presencia de fitopatógenos, puede ocurrir en los diferentes agrosistemas de producción como son a campo abierto, invernadero y casa sombra (Guigón-López y González-González, 2001). Entre los diversos factores bióticos que están implícitos en la marchitez del chile se encuentra un complejo de hongos del género *Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora* spp., *Vesicataria* spp., *Alternaria alternata*, *Oidiopsis taurica*, *Leveillula taurica*, *Sclerotinia sclerotium* y *Sclerotium rolfsii* (Chew *et al.*, 2008), ocasionando grandes pérdidas en la producción no solo en México, sino a nivel mundial (Vásquez *et al.*, 2009; Montero-Tavera *et al.*, 2013). Otro hongo que sobresale además de los previamente citados, es *Phytophthora capsici* (Segovia *et al.*, 1994; Guigón-López *et al.*, 2003), el cual, es un Oomicete que ocasiona daños significativos y pérdidas desde un 10 hasta un 100% (Avelar, 1989) al presentarse por todos los continentes con afectaciones considerables (Goldberg, 1998).

Para controlar este problema fitosanitario, los agricultores se han basado en el uso de fungicidas químicos afectando al medio ambiente, a la salud humana, una resistencia a los fungicidas y el incremento en los costos de producción (Chew *et al.*, 2008; Hernández-Castillo *et al.*, 2014). Uno de los controles solicitados en la actual Agricultura de Conversión, demanda aquellos que sean sustentables al medio ambiente, entre ellos figuran la combinación de biofumigaciones (Wang *et al.*, 2014) y el uso de injertos en patrones resistentes (Gibaldi *et al.*, 2013); actualmente desde hace una década resalta el uso de hongos rizosféricos =hongos micorrízicos arbusculares (HMA) y las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (Rpcv), los primeros con acción antagónica vs especies del género *Fusarium* y de *Rhizoctonia solani* (Ozgonen y Erilic, 2007; Ramos-Sandoval *et al.*, 2010; Pérez-Acevedo *et al.*, 2017); y los segundos han sido evaluados vs *Pseudomonas corrugata* y *Chryseobacterium indologenes*, entre otros más (Kyung and Deok, 2012). Ambos microorganismos (HMA y Rpcv), tienen la capacidad de encontrarse en el interior de tejidos sanos (Schulz y Boyle, 2006; Pérez y Chamorro, 2013), y cumplir varias funciones como la promoción del crecimiento vegetal, control biológico de fitopatógenos, mejorando la eficiencia en procesos de fitorremediación de compuestos tóxicos y como fuente inagotable de más de 20,000 compuestos biológicamente activos que influyen en el rendimiento y la supervivencia de la planta (Pérez y Chamorro, 2013), además producen un gran número de metabolitos secundarios que funcionan como antibióticos (Castillo *et al.*, 2002; Igarashi *et al.*, 2007). En los últimos años, el control biológico mediante

organismos antagónicos (HMA y Rpcv), se advierte como una valiosa herramienta para la protección de los cultivos hortícolas contra hongos fitopatógenos sobre todo cuando éstos son aplicados mediante consorcios (mezclas) o co-inoculaciones, ya que se han obtenido resultados significativos en diversas variables morfofisiológicas; los consorcios microbianos son asociaciones naturales de dos o más especies que actúan como una comunidad. Es decir, se trata de sistemas naturales en los que microorganismos de distintas especies, a menudo de distintos géneros, coexisten espacialmente y cooperan, posibilitando así la supervivencia de todos ellos y con quien cohabitan, asimismo, estas poblaciones mixtas tienen la capacidad y los recursos necesarios para llevar a cabo funciones que resultan muy complicadas o incluso imposibles de realizar para una única especie (Ramírez-Mares y Hernández, 2015).

El estado de México, sobresale a nivel nacional como un fuerte productor de chile. Sin embargo, los productores agrícolas son afectados por la presencia del hongo *Phytophthora capsici* como agente causal de la marchitez del tomate; actualmente están interesados en el uso de este tipo de alternativas biológicas como son los consorcios microbianos para el control del hongo, y es por lo anterior que el objetivo de la presente investigación consistió en evaluar consorcios de hongos micorrízicos y rizobacterias como control biológico vs *Phytophthora capsici*, en cultivares de chile (*Capsicum annuum* L.).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se evaluaron 23 genotipos de chile procedentes de diversas localidades agrícolas en el país (Tabla 1), divididos en cinco tipos: Pasillas (3), Anchos (4), Guajillos (4), Puya (4), Serrano (3) y Jalapeño (5) (Tabla 1), en condiciones de invernadero en el Colegio de Posgraduados, Campus Montecillo, en Montecillo, Texcoco, México. El trabajo se realizó en un invernadero de vidrio durante el período otoño-invierno-primavera 2019-2020.

Desinfestación de la semilla y preparación de semilleros para la siembra

Las semillas utilizadas para la siembra de cada uno de los 23 genotipos de chile se introdujeron en una solución de hipoclorito de sodio al 5% durante siete minutos, después se realizaron tres enjuagues con agua destilada y finalmente colocadas al sol para eliminar los excesos de agua. A la par, semilleros de unicel de 200 cavidades se les agregó sustrato de turba (Peat moss) más Agrolita en una proporción 50:50 (V/V). La esterilización del sustrato se realizó en olla de presión a 18.5 lb pulg⁻² (psi), con una temperatura de 120 °C y un tiempo de duración de seis horas, distribuidas en dos fases de tres horas cada una con un tiempo de reposo de 24 h entre ambas. La siembra de los 23 genotipos de chile se realizó el 5 de julio del año 2019, depositando dos semillas por cavidad a una profundidad de 0.5 cm, cubriendo con una capa ligera de sustrato Peat moss humedecido. Posteriormente se procedió a la inoculación de consorcios.

Tabla 1. Porcentaje de emergencia a los 10 días después de la siembra, de 23 genotipos de Chile, bajo el efecto de consorcios microbianos.**Table 1.** Emergency percentage of 23 Chile genotypes 10 days after sowing, from various agricultural regions of the country under the effect of microbial consortia.

Tipo de Chile	Genotipos	% emergencia				altura (cm)			
		T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
Pasillas	1. UAA/Ags.	51def	60b	62b	60b	67(±2)de	77(±1)ba	75(±1)b	79(±1)ab
	2. Perales 1/Zac.	52def	62b	63b	67b	65(±2)de	78(±1)ba	75(±1)b	79(±1)ab
	3. Perales 2/Zac.	52def	63b	63b	63b	67(±2)de	78(±1)ba	75(±1)b	80(±1)a
Anchos	4. UAA 2008/Ags.	53def	61bc	60bc	60bc	63(±3)de	74(±1)bc	73(±2)bc	75(±1)b
	5. AP Neek/SLP.	55def	63bc	61bc	63bc	65(±2)de	75(±1)b	73(±2)bc	74(±1)b
	6. 3v/Zac.	52def	62bc	62bc	62bc	62(±3)de	74(±2)bc	72(±2)bc	75(±1)b
	7. SR-2009/Dgo.	51def	63bc	63bc	63bc	61(±1)ef	74(±2)bc	73(±2)bc	75(±1)b
Guajillos	8. Don Luis/SLP	49ef	57de	58de	59de	58(±2)fg	70(±2)cd	69(±2)cd	71(±2)cd
	9. Perales/Zac.	50ef	58de	59de	59de	57(±3)fg	69(±3)cd	70(±2)cd	70(±2)cd
	10. Mirasol 3v/Zac.	51ef	59de	57de	58de	56(±3)fg	71(±1)cd	70(±2)cd	72(±2)cd
	11. Don Ramón/SLP	49ef	57de	58de	57de	56(±3)fg	71(±1)cd	71(±2)cd	73(±2)cd
Puya	12. 91/SLP	48ef	55de	56de	55de	48(±6)gh	66(±3)de	62(±5)de	68(±2)de
	13. Saladillo 1/Zac.	49ef	55de	55de	56de	53(±1)gh	65(±3)de	63(±4)de	67(±2)de
	14. Saladillo 2/Zac.	49ef	56de	57de	54de	51(±2)gh	67(±2)de	65(±2)de	67(±2)de
	15. Caudillo/Dgo.	50ef	56de	55de	56de	56(±4)fg	65(±4)de	64(±2)de	66(±2)de
Serrano	16. Hib. Coloso/Tamps.	52ef	86a	81a	82a	72(±2)cd	81(±2)a	80(±2)a	83(±2)a
	17. Hib. HS44/Tamps.	51ef	85a	81a	81a	70(±2)cd	80(±2)a	79(±1)a	83(±2)a
	18. Hib. Centauro/Tamps.	53ef	84a	81a	80a	71(±2)cd	82(±4)a	78(±1)a	83(±2)a
Jalapeño	19. Don Benito1/Tamps.	60bcd	87a	87a	85a	72(±2)cd	82(±2)a	82(±2)a	83(±2)a
	20. Don Benito2/Tamps.	69bcd	85a	84a	87a	72(±2)cd	82(±4)a	80(±1)a	84(±2)a
	21. Don Pancho/Tamps.	60bcd	87a	85a	86a	77(±2)cd	83(±3)a	81(±2)a	86(±4)a
	22. Apache/Chih.	61bcd	84a	85a	85a	71(±2)cd	82(±3)a	79(±1)a	85(±3)a
	23. Isabel/Chih.	62bcd	84a	83a	83a	72(±2)cd	82(±3)a	82(±3)a	87(±8)a

T1= Testigo (Sin aporte nutrimental), T2= Consorcio de los seis HMA, T3= Consorcio de seis HMA más un consorcio de cuatro Rpcv, T4= Fertilización química a base una solución nutrimental. Literales diferentes entre tratamientos muestras significancia con Tukey $p < 0.05$.

Tratamientos de estudio

Los tratamientos de estudio fueron cuatro: T1= Testigo (Sin aporte nutrimental (agua)), T2= Consorcio = (mezcla) de los seis HMA, T3= Consorcio de seis HMA más el consorcio de cuatro Rpcv, T4= Fertilización química a base una solución nutrimental Long Ahston completa (Yépez-Hernández *et al.*, 2016). Se desarrollaron 5 repeticiones por tratamiento; cada repetición presentó 30 plantas; 600 plantas fue el total de unidades experimentales en el presente estudio.

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) fueron obtenidos de inóculos establecidos por el área de Microbiología de Suelos, del Programa de Edafología, en el Colegio de Posgraduados Campus Montecillo y las rizobacterias del Laboratorio de Bacteriología de la Universidad tecnológica de Torreón (UTT). Los hongos corresponden a seis cepas de *Rhizophagus intraradices* con las claves Zac-19, Ced-20, Tab-21, Mér-22, Pap-23 y Jal-24. Asimismo, se incluyeron cuatro

cepas de rizobacterias (Rpcv = Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal), tres del género *Pseudomonas* que corresponden a *P. lini*, *P. fluorescens*, *Acinetobacter guillouiae* y una del género-especie *Aeromona caviae*.

Inoculación en la siembra con un consorcio de seis HMA y de las Rpcv

Acorde a Bécard y Piché (1992) se reprodujeron los HMA usando *Allium schoenoprasum* para obtener suficiente inóculo. El consorcio de los HMA se aplicó al momento de la siembra en concentraciones de 10 gramos de inóculo micorrízico por semilla sembrada depositada en los semilleros de unícel de 200 cavidades conteniendo el sustrato Peat moss más Agrolita; los 10 gr de inóculo micorrízico contuvo 1,788 esporas por 100 g de suelo húmedo.

Las cepas de Rpcv por separado, fueron cultivadas en caldo nutritivo a 26 °C durante 18 horas en agitación. La sus-

penión bacteriana se centrifugó durante 15 minutos a 7000 rpm. El pellet de cada rizobacteria se resuspendió en 20 mL de agua destilada estéril y se hicieron diluciones decimales hasta 10^{-5} UFC/mL o bien hasta alcanzar una concentración celular de 1×10^5 UFC/mL de cada espécimen. Con una micropipeta, un mL de la dilución bacteriana de cada espécimen fue depositado en la semilla depositada en los semilleros de unisel de 200 cavidades conteniendo el sustrato Peat moss más Agrolita.

Condiciones de germinación y emergencia

Después de la inoculación, los semilleros de cada tratamiento, fueron cubiertos con polietileno negro por 48 hrs para conservar el contenido de humedad (100%) a una temperatura de 22 °C. Posteriormente, los semilleros se liberaron de la cubierta de polietileno y, durante 10 días se mantuvieron en los semilleros irrigándolos (a saturación) con una solución nutrimental química a base una solución nutrimental; la preparación de la solución nutritiva se basó en una solución química tipo Long Ashton completa (400 ml/charola) (Yépez-Hernández *et al.*, 2016), la que fue aplicada cada tercer día.

Trasplante a macetas e inoculación con zoosporas de *Phytophthora capsici*

A los 10 días después de la siembra, se desarrolló un trasplante de plántulas en macetas plásticas de dos litros (0.70 kg). El sustrato utilizado fue Peat moss y arena fina obtenida de río de la región esterilizado en una relación 40 y 20%, más Agrolita en un 40%. Al finalizar el trasplante, 12 hrs después, se procedió a realizar una nueva inoculación de los consorcios con base a los tratamientos indicados. La irrigación fue diaria a las macetas fue depositando 200 mL/día de la solución nutritiva previamente indicada durante 60 días a partir del trasplante.

Para la inoculación con *Phytophthora capsici*, se desarrollaron aislamientos puros de aquella donada por el Laboratorio agrícola del Colegio de Postgraduados en Montecillos; éstos se cultivaron en medio PDA (papa dextrosa agar) para su incremento masivo. Después de 15 días de crecimiento se elaboró el inóculo de la siguiente manera: en cajas Petri con 20 mL de agua destilada esterilizada se colocaron discos de medio de cultivo que contenían micelio de *P. capsici*; el material se incubó a 25 °C por tres días para la formación de esporangios y la posterior liberación de sus zoosporas al ubicar las cajas Petri a 12 °C por 30 min.; posteriormente, con la ayuda de un hemacitómetro se ajustó una suspensión de zoosporas a una concentración de 3×10^3 mL⁻¹. A los 11 días después de trasplante, las plantas de Chile correspondientes a los cuatro tratamientos de estudio fueron inoculadas con tres gramos de hojarasca estéril conteniendo 3×10^3 zoosporas de *P. capsici*, con 36 hrs de crecimiento. Las plantas se mantuvieron durante 60 días en invernadero en condiciones favorables de la enfermedad las cuales son: una temperatura de 25 + 5 °C y una humedad relativa de 80 + 5%. El riego de las plantas se mantuvo constante (cada 3 días) para todos los tratamientos (Ramírez-Villapudua y Romero-Cova, 1980).

Variables evaluadas

Las variables evaluadas en la etapa de semillero fueron: El número de plántulas emergidas en semillero (npes) a los 10 días después de la siembra. La altura de la plántula fue contabilizada a los 10, 28, 57 y 70 días después de la siembra.

El porcentaje de plantas muertas por ataque del hongo fitopatógeno (*P. capsici*), se llevó a cabo mediante una escala subjetiva, realizando revisiones, conteos y registro de las plantas muertas a los 14, 28, 36, 40 y 45 días después de la inoculación que mostraran marchitez, característico de la enfermedad en cuestión. Se realizaron en cada uno de los cuatro tratamientos de estudio. Las plantas afectadas, fueron trasladadas al laboratorio, para re-aislar el hongo *P. capsici*, e identificarlo con las claves Erwin y Ribeiro (1996), Martin *et al.* (2012) y Lamour *et al.* (2012).

Detección de células microbiológicas adheridas al sistema radicular de Chile

Para las Rpcv al finalizar el estudio (60 días después del trasplante), se seleccionaron cinco plántulas de los diferentes tratamientos; sus raíces previamente lavadas con agua destilada estéril, se cortaron para transferirse a un tubo Eppendorf con agua estéril y se agitaron durante 1 m, para provocar el desprendimiento de las bacterias adheridas a la raíz. De la solución resultante se tomaron 100 µL que se sembraron por dispersión en placa de medio OAB selectivo. Las placas se incubaron a 30 °C durante 24 h para cuantificar las unidades formadoras de colonia (UFC). Esta prueba se realizó por triplicado.

Para el caso de *Rhizophagus intraradices* se llevó a cabo mediante su tinción con azul de tripano (Phillips y Hayman, 1970) y observación al microscopio electrónico de las estructuras características de esta asociación (hifas, arbusculos y vesículas). Se determinó el porcentaje de colonización mediante la técnica de McGonigle *et al.* (1990).

Se realizó un análisis microbiológico para apreciar la presencia del hongo de *P. capsici*, considerando la técnica de aislamiento previamente citada (*Trasplante a macetas e inoculación con zoosporas de Phytophthora capsici*).

Análisis estadístico

En el presente trabajo se aplicó un diseño completamente al azar. Se realizaron análisis de varianza y pruebas de comparación múltiple de medias (Tukey $p < 0.05$). Los análisis estadísticos fueron realizados con el programa de cómputo SAS (SAS, 2004).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluación en semillero: número de plántulas emergidas en la cámara germinadora

Al cabo de 10 días después de la siembra, los 23 genotipos de Chile agrupados en tipo Pasilla (3), Ancho (4), Guajillo (4), Puya (4), Serrano (4) y Jalapeño (5), presentaron porcentajes promedio de emergencia del 63% (± 1), 62.7% (± 1), 58.5% (± 1), 56.5% (± 1), 82.0% (± 3), y 84.0% (± 3), respectivamente. Al ser analizados de manera individual, sobresalieron los

cultivares designados numéricamente 19. Don Benito1/Tamps; 20. Don Benito2/Tamps.; 21. Don Pancho/Tamps.; 22. Apache/Chih.; y el 23. Isabel/Chih. con los porcentajes más altos en emergencia por arriba del 85% (Tabla 1); en siguiente orden resultaron los híbridos 16. Hib. Coloso/Tamps.; 17. Hib. HS44/Tamps.

Al desarrollar los análisis por grupo de inoculantes vs controles (T1= Testigo (agua)), T2= Consorcio = (mezcla) de los seis HMA, T3= Consorcio de seis HMA más el consorcio de cuatro Rpcv, T4= Fertilización química), los resultados arrojaron que el T2 y T4, se mostraron numéricamente superiores en comparación del T3 y con significancia con relación al T1 ($p < 0.05$).

Altura de la planta

El promedio de la altura obtenida al analizar los tratamientos por separado (23), los resultados indican que el mejor tratamiento fue el 23 (87 (± 8 cm)). Isabel/Chih a base de fertilización química. Sin embargo, éste no se mostró superior con $p < 0.05$ en comparación con los tratamientos 16 al 22 (Tabla 1), excepto aquellos considerados como testigo control (T1).

Por su parte cuando fueron agrupados en tipo Pasilla (3), Ancho (4), Guajillo (4), Puya (4), Serrano (4) y Jalapeño (5), se pudo apreciar que los de tipo serrano y jalapeño, fueron los que mostraron valores numéricos altos en comparación de los de tipo Pasilla (3), Ancho (4), Guajillo (4), Puya (4), respectivamente (Tabla 1).

Los resultados obtenidos con los encontrados por Cardona *et al.* (2008) muestran que las Rpcv (*Pseudomonas* sp.) por si solas mejoran el crecimiento de las plantas; en el estudio los mismos autores obtuvieron alturas de planta de glicófitas a los 20 días después de la inoculación. Gholami *et al.* (2009) y Bashan *et al.* (2009), alcanzaron un incremento de 21.31%, para la altura de planta cuando inocularon plantas de pimiento morrón con *Bacillus* sp. MA 12, con respecto al testigo a los 60 días después de la inoculación. Diversos estudios son los que destacan la capacidad de las Rpcv para favorecer la micorrización (Founoune *et al.*, 2002; Mediavilla *et al.*, 2015; Miransari, 2011) y promover el crecimiento de las plantas micorrizadas (Barman *et al.*, 2015; Frey-Klett *et al.*, 2007).

Ataque de *P. capsici* en plantas de chile a los 14, 28, 36, 40 y 45 días después de la inoculación

En el presente estudio, *P. capsici* a los 23 cultivares de chile en condiciones de invernadero, se encontró que a los 14 días después de la inoculación (ddi), al analizarse por grupos de inoculantes vs controles (T1= Testigo (agua)), T2= Consorcio = (mezcla) de los seis HMA, T3= Consorcio de seis HMA más el consorcio de cuatro Rpcv, T4= Fertilización química), los resultados arrojaron que el testigo y el de fertilización química, mostraron al inicio del estudio plantas con síntomas característicos de la enfermedad los cuales se distinguen porque aparecen manchas oscuras en el cuello de la raíz, que provoca que la planta se marchite y muera. Las plántulas

se marchitan y se pudren cuando la infección ocurre en los semilleros (Guigón-López y González-González, 2003). Por su parte los tratamientos a base de consorcios no mostraron síntoma alguno. A los 28 ddi, se observó que el tratamiento a base de HMA, fue el más susceptible en esta etapa, quedando en segundo orden el testigo control y el de fertilización química (Tabla 2); por su parte aquel a base de la coinoculación de ambos consorcios (MHA+Rpcv), se mantuvieron sin mostrar los síntomas de la enfermedad.

Al cabo de 36 ddi, el testigo control, manifestó un alto porcentaje de plantas muertas (50%) en comparación del T2 y el Tratamiento a base de fertilización química. Por su parte el tratamiento con ambos consorcios fue el menos afectado. Un similar comportamiento fue registrado a los 40 ddi, sobresaliendo como el más sano, el tratamiento a base de (MHA+Rpcv). El testigo control resultó el más afectado por el agente en estudio *P. capsici* (Tabla 2). Diversos estudios muestran que la protección de las plantas contra enfermedades ocasionadas por hongos fitopatógenos (Gholami *et al.*, 2009; Lugtenberg *et al.*, 2009), puede ser favorecida por los HMA y las Rpcv, los cuales presentan un control biológico en contra de *Phytophthora*, *Fusarium*, *Rhizoctonia* y otros agentes fitopatógenos (Kloepper *et al.*, 1978; Rai, 2001).

A los 45 ddi, se realizó la evaluación final del ataque de *P. capsici* en el desarrollo de las plantas de chile. Los análisis arrojaron que los genotipos o cultivares más susceptibles fueron los chiles tipo Jalapeños (95%), los tipo Puyas (62.5%) y los tipo Serranos (75%), mientras que los menos vulnerables fueron los Pasilla (37.5%), tipo Ancho (50%) y tipo Guajillo con 37.5% (Tabla 3). Se pudo apreciar que el T2 en los tipo Serrano, no repercutió en una protección a la planta; este comportamiento del T2, resultó similar para todos los

Tabla 2. Porcentaje de plantas muertas por ataque de *P. capsici* a los 14, 28, 36 y 40 días después de la inoculación (ddi), en plantas de chile bajo el efecto de consorcios de hongos micorrizicos y rizobacterias como control biológico.

Table 2. Percentage of plants killed by *P. capsici* attack, at 14, 28, 36 and 40 days after inoculation (dai), in a population of 600 chili plants under the effect of consortia of mycorrhizal fungi and rhizobacteria such as biologic control.

	T1 (Testigo) %	T2 (HMA) %	T3 (HMA+Rpcv) %	T4 (Fertiliz. quím.) %	Total de plantas
Plantas muertas (14 ddi)	2.5	0	0	2.5	2
Plantas muertas (28 ddi)	5	8	0	5	7
Plantas muertas (36 ddi)	50	32	7	5	30
Plantas muertas (40 ddi)	20	27	10	5	20
Total	77.5	67	17	17.5	59

ddi= Días después de inoculación; (Fertiliz. Quím.)= fertilización química.

Tabla 3. Porcentaje de plantas muertas por ataque de *P. capsici* a los 45 días después de la inoculación (ddi), en plantas de Chile bajo el efecto de consorcios de hongos micorrízicos y rizobacterias como control biológico.
Table 3. Percentage of plants killed by *P. capsici* attack, at 45 days after inoculation (dai), in a population of 600 chili plants under the effect of consortia of mycorrhizal fungi and rhizobacteria such as biologic control.

Tipo Pasilla	Plantas muertas por ataque de <i>P. capsici</i> . Leo. 45 ddi (%)
(T1) Control absoluto (%)	15
(T2) HMA (%)	15
(T3) HMA+Bpcv (%)	2.5
(T4) Fertilización química (%)	27
Tipo Ancho	
(T1) Control absoluto (%)	15
(T2) HMA (%)	25
(T3) HMA+Bpcv (%)	7.5
(T4) Fertilización química (%)	25
Tipo Guajillo	
(T1) Control absoluto (%)	15
(T2) HMA (%)	10
(T3) HMA+Bpcv (%)	5
(T4) Fertilización química (%)	25
Tipo Puya	
(T1) Control absoluto (%)	35
(T2) HMA (%)	10
(T3) HMA+Bpcv (%)	7.5
(T4) Fertilización química (%)	43
Tipo Serrano	
(T1) Control absoluto (%)	24
(T2) HMA (%)	37
(T3) HMA+Bpcv (%)	7.5
(T4) Fertilización química (%)	75
Tipo Jalapeño	
(T1) Control absoluto (%)	55
(T2) HMA (%)	20
(T3) HMA+Bpcv (%)	10
(T4) Fertilización química (%)	55

ddi= Días después de la inoculación

restantes tratamientos y para el Testigo control. Lo contrario ocurrió con el T3, ofreciendo resultados favorecedores en comparación del T4 a base de fertilización química (Tabla3).

Los 23 cultivares de Chile en estudio, agrupados estos en los tipos Pasillas, Anchos, Guajillos, Puyas, Serranos y Jalapeños, evaluados en el presente estudio, muestran una respuesta favorable evitando una infección de *P. capsici* cuando

Tabla 4. Células Unidades formadoras de colonias (UFC/mL) y esporas de consorcios de hongos micorrízicos y rizobacterias como control biológico, adheridas al sistema radicular de cultivares de Chile.

Table 4. Colony forming units (UFC/mL) and spores from mycorrhizal fungi and rhizobacteria as biological control adhered to chili plant cultivar radicular systems.

Microorganismo de consorcio	(T2) HMA Número de esporas/ g suelo	(T3) HMA+Bpcv Número de esporas/ g suelo (Log ¹⁰) UFC/mL
<i>Rhizophagus intraradices</i> Zac-19	465±73	435±55
<i>Rhizophagus intraradices</i> Ced-20	429±87	397±73
<i>Rhizophagus intraradices</i> Tab-21	399±122	599±102
<i>Rhizophagus intraradices</i> Mér-22	445±91	483±61
<i>Rhizophagus intraradices</i> Pap-23	420±22	465±101
<i>Rhizophagus intraradices</i> Jal-24	380±68	345±108
<i>Pseudomonas lini</i>	nd	4.00
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	nd	3.99
<i>Acinetobacter guillouiae</i>	nd	4.06

nd: no determinado

éstos son coinoculados con HMA y Rpcv; resultados que concuerdan con aquellos de Frey-Klett *et al.* (2007) y Kloepper *et al.* (1978), citado por Rai, (2001), donde señalan la acción de "biocontrol" de *Phytophthora*, *Fusarium* y *Rhizoctonia* figuran ciertos mecanismos como son la antibiosis, parasitismo, sideróforos, y resistencia sistémica inducida, principalmente (Gholami *et al.*, 2009; Lugtenberg *et al.*, 2009). Cabe indicar que aquellas plantas del tratamiento a base de fertilización química, resultaron con altos porcentajes de plantas infectadas por el fitopatógeno en estudio, lo cual fue evidenciado en las "pruebas de Koch" descrito en el apartado metodológico (Detección de células microbiológicas adheridas al sistema radicular de Chile).

Al finalizar el estudio, se pudo apreciar que las seis cepas del HMA *Rhizophagus intraradices* con las claves Zac-19, Ced-20, Tab-21, Mér-22, Pap-23, Jal-24 y, las cepas de Rpcv, de *Pseudomonas* y que corresponden a *P. lini*, *P. fluorescens*, *Acinetobacter guillouiae* y una del género-especie *Aeromona caviae*, al ser analizados en las raíces de las plantas de los diferentes cultivares de Chile, se identificaron células y/o esporas de los microorganismos en estudio (Tabla 4).

CONCLUSIONES

La coinoculación de HMA y las Rpcv, promueven la emergencia de plántula y que, con base a las condiciones del presente estudio, redujeron el ataque del hongo *P. capsici*, en plantas de 23 cultivares de Chile en comparación a las plantas de los restantes tratamientos. Los cultivares de Chile tipo Pa-

silla y tipo Guajillo, presentaron la mayor resistencia al ataque de *P. capsici* Leo., cuando fueron inoculados con HMA+R_{pcv}, mientras que los chiles tipo Serrano, Puya y Jalapeño, fueron los de mayor susceptibilidad al ataque del hongo fitopatógeno. Estudios relacionados con un sistema de producción completo bajo las condiciones en las que es producido el cultivo de Chile, sugiere ser evaluado vs el sistema convencional en el control de *Phytophthora capsici*.

REFERENCIAS

Avelar, M.J.J. 1989. Intentos de Control de la Marchitez del Chile ocasionada por el hongo *Phytophthora capsici* Leonian en la región de Valsequillo, Puebla, México. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. Montecillo, estado de México. 66 p.

Barman, P., Singh, S.K., Patel, V.B., Singh, A.K., Nain, L. 2015. Synergistic interaction of arbuscular mycorrhizal fungi and mycorrhiza helper bacteria improving antioxidant activities in Troyer citrange and Cleopatra mandarin under low moisture stress. *Indian J. Hortic.* 72:1 33-37.

Bashan, Y., Bustillos J.J., Leyva, L. A., Hernández J.P., Bacilio M. 2006. Increase in auxiliary photoprotective photosynthetic pigments in wheat seedlings induced by *Azospirillum brasilense*. *Biology and Fertility of Soils.* 42: 279-285.

Bécard, Y. Piché, I. 1992. Establishment of vesicular-arbuscular mycorrhiza in root organ culture: review and proposed methodology. *Methods Microbiol.* 24. 89e108.

Cardona, G., Peña-Venegas, C. P., Arcos, A. 2008. Occurrence of *Arbuscular micorrhizae* fungi in red pepper (*Capsicum sp.*) in the Amazonian region of Colombia. *Agronomía Colombiana* 26(3): 459-470

Castañón-Nájera, G., Latournerie-Moreno, L., Mendoza-Elos, M., Vargas-López, A., Cárdenas-Morales, H. Colección y caracterización de Chile (*Capsicum spp*) en Tabasco, México. *Rev. Int. de Botánica Experimental.* 2008; 77: 189-202.

Castillo, U.F., Strobel, G.A., Ford, E.J., Hess, W.M., Porter, H., Jenesen, J.B. 2002. Munumbicins, wide spectrum antibiotics produced by *Streptomyces* (NRRL30562) endophytic on *Kennedyanigriscans*. *Micorobiology* 148: 2675-2685.

Erwin, D.C., Ribeiro, O.K. 1996. *Phytophthora Diseases Worldwide*. APS PRESS. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota. 562 pp.

Frey-Klett, P., Garbaye, J. The Mycorrhiza helper bacteria revisited. *New Phytol.* 2007; 176: 22-36

Gholami, A., Shahasvani, S., Nizarat, S. 2009. The effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on germination, seedling growth and yield of maize *World Academy of Science, Engineering and Technology.* 49: 10-24.

Gholami, A., Shahasvani, S., Nizarat, S. The effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on germination, seedling growth and yield of maize. *World Academy of Science, Engineering and Technology.* 2009; 49: 10-24.

Gilardi, G., Baudino, M., Moizio, M., Pugliese, M., Garibaldi, A., Gullino, M. L. 2013. Integrated management of *Phytophthora capsici* on bell pepper by combining grafting and compost treatment. *Crop Protection.* 53:13-19.

Goldberg, N. P. 1998. Chile pepper diseases. *Agricultural Experimental Station. Circular No 549.* College of Agriculture and Home Economics. New México State University. Las Cruces, New México, USA. 20 p.

Guigón-López, C., González-González, P. 2001. Estudio regional de las enfermedades del Chile (*Capsicum annum L.*) y su comportamiento temporal en el sur de Chihuahua, México. *Revista Mexicana de Fitopatología.* 19(1):49-56.

Guigón-López, C., González-González, P. A. 2003. Selección de cepas nativas de *Trichoderma spp.* Con actividad antagónica sobre *Phytophthora capsici* Leonian y promotoras del crecimiento en el cultivo de Chile (*Capsicum annum L.*). *Revista Mexicana de Fitopatología.* 22(1):117-124.

Hernández-Castillo, F.D., Lira-Saldívar, R.H., Gallegos-Morales, G., Hernández-Suárez, M., Solís-Gaona, S. 2014. Biocontrol de la marchitez del Chile con tres especies de *Bacillus* y su efecto en el crecimiento y rendimiento. *Revista Internacional de Botánica Experimental.* 83(1):49-55.

Kaiser, H.F. The application of electronic computers to factor analysis. *Educ. Psychological Meas.* 1960; 20: 141-151.

Kyung, S., Deok, J., Deok, K. 2012. Plant growth-promoting rhizobacteria suppressive to phytophthora blight affect microbial activities and communities in the rhizosphere of pepper (*Capsicum annum L.*) in the field. *Applied Soil Ecology.* 62(1):88-97.

Kyung, S., Chun, S., Deok, K. 2008. Biological control of phytophthora blight of pepper by antagonistic rhizobacteria selected from a sequential screening procedure. *Biological Control.* 46(3):424-433.

Lamour, K.H., Stam, R., Jupe, J., Huitema, E. 2012. The oomycete broad-host-range pathogen *Phytophthora capsici*. *Molecular Plant Pathology* 13 (4):329-337. doi: 10.1111/J.1364-3703.2011.00754

Lugtenberg, B., Chin-A-Woeng, T., Bloemberg, G. 2002. Microbe-Plant interactions: principles and mechanisms. *Antonie Van Leeuwenhoek.* 81: 373-383.

McGonigle, T.P., M.H. Miller, D.G. Evans, G.L. Fairchild, Swan, J.A. 1990. A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 115:495-501.

Martin, F.N., Abad, Z.G., Balci, Y., Ivors, K. 2012. Identification and Detection of Phytophthora: Reviewing Our Progress, Identifying Our Needs. *Plant Disease* 96(8):1080-1103.

Mediavilla, V., M. Leupin., Keller, A. 2001. Influence of the growth stage of industrial hemp on the yield formation in relation to certain fibre quality traits. *Industrial Crops and Products.* 13(1):49-56.

Ozgonen, H., Erkilic, A. 2007. Growth enhancement and phytophthora blight (*Phytophthora capsici* Leonian) control by arbuscular mycorrhizal fungal inoculation in pepper. *Crop Protection.* 26:1685-188.

Pérez, C., A., Chamorro, A.L. 2013. Bacterias endófitas: un nuevo campo de investigación para el desarrollo del sector agropecuario. *Revista Colombiana de Ciencia Animal.* 5(2):439-462.

Pérez-Acevedo, C.E., J.C. Carrillo-Rodríguez., J.L. Chávez-Servia., C. Perales-Segovia., R. Enríquez Del V., Villegas-Aparicio, Y. 2017. Diagnóstico de síntomas y patógenos asociados con marchitez del Chile en Valles Centrales de Oaxaca. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas.* 8(2):281-293.

Phillips, J. M., Hayman, D.S. 1970. Improved procedure for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society* 55:158-161.

Rai, M.K. 2001. Current advances in mycorrhization in

- micropropagation. In *Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*. 37 158-167.
- Ramírez-Villapudua, J., Romero-Cova, S. 1980. Supervivencia de *Phytophthora capsici* Leo., agente causal de la marchitez del chile. *Agrociencia* 39:9-18.
- Ramírez-Mares, M.V., Hernández-Carlos, B. 2015. Plant-derived natural products from the American continent for the control of phytopathogenic fungi: a review. *Journal of Global Innovations in Agricultural and Social Sciences*, 3: 96-118.
- Ritz, C., Baty, F., Streibig, J.C., Gerhard, D. 2015. Dose-response analysis using R. *PLoS ONE*, 10. Doi:e0146021.
- SAS Institute. 2004. *SAS/STAT user's guide*. Version 6.12 SAS, Institute, Cary, N.C. U.S.A.
- Yépez-Hernández, F.J., Ferrera-Cerrato, A., Alarcón, J., Delgadillo-Martínez, J., Mendoza-López, M.R., García-Barradas, J. 2016. Fertilización nitrogenada en el crecimiento, contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de Albahaca. *Rev. Fitotec. Mex.* 29(1):33-40.