



Efecto de inoculantes microbianos en los compuestos bioactivos y actividad antioxidante del chile xcat'ik (*Capsicum annuum* L.)

Effect of microbial inoculants on bioactive compounds and antioxidant activity of xcat'ik pepper (*Capsicum annuum* L.)

Mario Sánchez¹, Ruíz-Sánchez E²; Muñoz-Rodríguez D³; Chan Cupul W⁴; Medina-Dzul K^{2*}

¹ Centro de Investigación en Materiales Avanzados, S.C. Alianza Norte 202, PIIT, Carretera Monterrey-Aeropuerto Km. 10, Apodaca NL, 66628. México.

² Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Conkal. Av. Tecnológico S/N, Conkal, Yucatán. México, 97345.

³ Facultad de Ingeniería Química, Universidad Autónoma de Yucatán, Periférico Norte km. 33.5, Tablaje catastral 13615, Colonia Chuburná de Hidalgo Inn, 97203, Mérida, Yucatán, México.

⁴ Universidad de Colima, Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Km. 40, Autopista Colima-Manzanillo, 28100, Tecomán, Colima, México.

RESUMEN

El chile xcat'ik (*Capsicum annuum* L.), originario de la península de Yucatán tiene propiedades organolépticas únicas. Pero, la calidad nutracéutica ha sido poco explorada y solamente escasos estudios han buscado mejorar el rendimiento productivo de la planta. La especie *Capsicum* es considerada un alimento importante debido al contenido de compuestos bioactivos, que promueven efectos beneficiosos a la salud. El uso de inoculantes microbianos son una alternativa para incrementar su rendimiento, mejorar la calidad de los frutos y disminuir el uso de los fertilizantes químicos. En este trabajo se evaluó el efecto de un consorcio microbiano, así como de *Bacillus subtilis* y *Trichoderma harzianum* sobre los contenidos de ácido ascórbico, fenoles totales, flavonoides, clorofilas, carotenoides, capacidad antioxidante y capsaicinoides, en el fruto del chile xcat'ik. Los resultados fueron comparados con un control sin inocular. Las inoculaciones con *T. harzianum* y con *B. subtilis* incrementaron el contenido de carotenoides, así como la actividad antioxidante por ABTS⁺, mientras el consorcio microbiano incrementó la actividad antioxidante por DPPH[•]. De acuerdo a nuestros resultados, los inoculantes evaluados podrían sustituir a los fertilizantes químicos, debido a que igualan o mejoran la calidad nutracéutica del fruto del chile xcat'ik, con la ventaja de un menor daño al medio ambiente.

Palabras clave: actividad antioxidante, carotenoides, *Capsicum annuum*, inoculantes microbianos, agricultura sustentable.

ABSTRACT

Xcat'ik pepper (*Capsicum annuum* L.), native to the Yucatan Peninsula, has unique organoleptic properties. However, the nutraceutical quality of the fruit has been scarcely explored and only a few previous studies have focused on improving the productive yield of the plant, hence the importance of generating knowledge in this field. The *Capsicum* species is considered an important food due to the bioactive compounds content, which promote beneficial

health effects. The use of microbial inoculants is an alternative to increase yield, improve fruit quality, and reduce the use of chemical fertilizers. In this work, the effect of a microbial consortium, as well as *Bacillus subtilis* and *Trichoderma harzianum* on the contents of ascorbic acid, total phenols, flavonoids, chlorophylls, carotenoids, antioxidant capacity and capsaicinoids in the fruit of xcat'ik pepper was evaluated. The obtained results were compared with an uninoculated control. Inoculations with *T. harzianum* and *B. subtilis* increased carotenoid content as well as antioxidant activity by ABTS⁺, in contrast the microbial consortium increased antioxidant activity by DPPH[•]. According to our results, the evaluated inoculants could replace chemical fertilizers, because they equal or even improve the nutraceutical quality of the x'catik pepper fruit, with the advantage of being less harmful to the environment.

Keywords: antioxidant activity, carotenoids, *Capsicum annuum*, microbial inoculants, sustainable agriculture.

INTRODUCCIÓN

El chile xcat'ik (*Capsicum annuum* L.) representa uno de los principales cultivos de importancia económica en la península de Yucatán, es de carne abundante y sabrosa, moderadamente picante lo que le confiere un sabor agradable. Debido a esto tiene gran aceptación y demanda en el mercado y también puede ser materia prima para la elaboración de productos industriales (Cisneros-Pineda, 2007). Después de los vegetales, la especie *Capsicum annuum* es la más consumida a nivel mundial, es una excelente fuente de colorantes naturales y compuestos antioxidantes. Es rico en capsaicinoides, compuestos alcaloides farmacéuticamente significativos por su eficacia neurológica, aporta diversos compuestos bioactivos con efectos positivos para la salud ya que se asocian a muchas actividades biológicas con propiedades antiinflamatorias, anticancerígenas, antioxidantes, entre otras, por lo que su consumo es ampliamente recomendado en cualquiera de sus variedades (Silva *et al.*, 2014, Karppinen *et al.*, 2016). Por otra parte, la búsqueda de nuevas

*Autor para correspondencia: Kati Medina Dzul
 Correo electrónico: kati.medina@itconkal.edu.mx

Recibido: 4 de marzo de 2022

Aceptado: 19 de junio de 2022

propuestas agrícolas menos agresivas con la salud y el medio ambiente, ha llevado al uso de los inoculantes microbianos como biofertilizantes, microorganismos beneficiosos que pueden ser una vía utilizable para mejorar el crecimiento de las plantas mejorando la competitividad vegetal porque promueven la resistencia contra patógenos y al medio ambiente, además ayudan a reducir el efecto negativo por estrés (Chatterjee et al., 2016; Zhao et al., 2019).

Los niveles de los compuestos bioactivos contenidos en los vegetales pueden variar dependiendo de las prácticas agrícolas adoptadas para el cultivo. En función de esto algunos inoculantes microbianos, son capaces de mejorar las propiedades nutritivas de frutas o vegetales al aumentar la actividad antioxidante, fenoles totales y la clorofila (Khalid et al., 2017), antocianinas, carotenoides y flavonoides (Baslam et al., 2011), la dulzura de los frutos y el contenido de humedad, entre otros factores (Singh y Prabha, 2020).

Si bien, el uso de estos productos tiene muchas ventajas, es importante recordar que su efectividad varía y depende de muchos factores como el tipo de suelo, la humedad del aire o precipitaciones, así como las condiciones de almacenamiento (Pylac et al., 2019).

En este sentido en 2010, Russo y Perkins, realizaron uno de los primeros trabajos de investigación en condiciones de invernadero con el cultivo de pimiento morrón (*C. annuum* L.) utilizando bacterias y hongos micorrízicos (*Glomus* sp.) donde evaluaron el rendimiento y el contenido de nutrientes. Asimismo en 2014, Silva et al. realizaron la inoculación de *C. annuum* (L.) con cepas de *Rizobium strains* para evaluar su efecto en los compuestos antioxidantes. En 2020, Cisternas-Jamet et al. emplearon con éxito el género *Bacillus* para el cultivo de chile y tomate. Debido a los resultados satisfactorios obtenidos con inoculantes microbianos sobre el género *Capsicum* reportados en estudios previos, la importancia económica que representa el cultivo del chile xcat'ik y el nulo conocimiento sobre los compuestos bioactivos del mismo, se planteó el objetivo de evaluar el efecto de los inoculantes microbianos en los cambios de los compuestos bioactivos, actividad antioxidante y capsaicinoides de los frutos del chile xcat'ik (*Capsicum annuum* L.) cultivados en la península de Yucatán para generar información acerca de sus beneficios o propiedades como alimento nutraceutico que pueda contribuir a un efecto positivo en la salud humana.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización y preparación del área experimental

El experimento se realizó en un invernadero tipo túnel en el área de investigación hortícola del Instituto Tecnológico de Conkal, Yucatán, al noreste de Mérida, ubicado en 21° 06' latitud Norte y 89° 31' longitud Oeste y con una altitud de 10 msnm. La región se caracteriza por tener un clima cálido, el más seco de los subhúmedos con lluvias uniformemente repartidas y o tendencia al verano, alto porcentaje de lluvia invernal y sequía intraestival ($Ax'(w_o)w''$) de acuerdo a la clasificación climática de Köppen. La temperatura media anual es de 26.6 °C y las mínimas de 17 °C, con una precipitación

media anual de 600 mm. El material genético utilizado fue chile xcat'ik criollo Itck01. La plantación se estableció en líneas de 38 m de largo y 1.2 m de separación entre ellas, las líneas contenían camas de 30 cm de ancho, las cuales fueron abonadas con 2 kg de composta por metro lineal de cama de siembra. Las plantas se establecieron en las camas a una distancia de 0.3 m entre ellas. Se utilizó un sistema de riego por goteo con gasto nominal de 1 L h⁻¹. La fertilización (kg ha⁻¹) con N: P: K fue en proporción 200:150:180 para el ciclo de 180 días de chile xcat'ik.

Tabla 1. Fertilización en kg por etapa fenológica de chile xcat'ik (*Capsicum annuum* L.) tomando como base la densidad de 20 000 plantas ha⁻¹.

Table 1. Fertilization in kg per phenological stage of xcat'ik pepper (*Capsicum annuum* L.) based on a density of 20 000 plants ha⁻¹.

Etapa fenológica	Días después del trasplante	Cantidad de fertilizante		
		N	P	K
Adaptación	1-15	37.5	22.5	30.5
Crecimiento	16-34	75.5	30.5	44
Floración	36-60	42	60.5	50.5
Cosecha	61-160	45	36.5	55

Diseño experimental y descripción de tratamientos

Se utilizó un diseño experimental en bloques completos al azar con cuatro tratamientos y cuatro repeticiones por tratamiento. Las parcelas que representaron las repeticiones contenían 30 plantas.

Se aplicaron cuatro tratamientos: 1) Consorcio de microorganismos *Glomus* spp. + *Bacillus megaterium* + *Pseudomonas fluorescens* + *Azospirillum brasilense* + *Azotobacter chroococcum*; 2) *Bacillus subtilis*, 3) *Trichoderma harzianum* y 4) control (tratamiento sin inoculante). Las aplicaciones se realizaron con una bomba de mochila de 20 L, directo a la base de la planta, a los días 7, 14, 21 y 28. La concentración de inóculo en los productos comerciales y las cantidades de producto comercial en cada aplicación se indican en la Tabla 2.

Tabla 2. Inoculantes microbianos aplicados en el cultivo de chile xcat'ik (*Capsicum annuum* L.).

Table 2. Microbial inoculants applied in xcat'ik pepper (*Capsicum annuum* L.) cultivation.

Tratamiento	Ingrediente activo	Concentración de inóculo en producto comercial	Dosis por planta en cada aplicación
Consorcio microbiano	Pro micorriza* (<i>Glomus</i> spp.)	33 inóculos g ⁻¹	0.1 g
	Bacterias benéficas (<i>Bacillus megaterium</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Azospirillum brasilense</i> , <i>Azotobacter chroococcum</i> .)	5x10 ⁸ ufc mL ⁻¹	
<i>B. subtilis</i>	Bactilis* (<i>Bacillus subtilis</i>)	1x10 ¹² ufc mL ⁻¹	0.1 mL
<i>T. harzianum</i>	Trico-bio* (<i>Trichoderma harzianum</i>)	1x10 ¹¹ ufc mL ⁻¹	0.1 mL
Control	Sin inoculante	-	-

Colecta de material

Para el análisis nutracéutico del fruto se muestrearon aleatoriamente las plantas inoculadas hasta obtener un kg de fruto en total, las muestras fueron parte del tercer corte. Después del muestreo los frutos se lavaron, se congelaron y posteriormente se liofilizaron, en seguida se mantuvieron en congelación hasta su análisis.

Determinación y cuantificación de los compuestos bioactivos, actividad antioxidante y capsaicinoides**Cuantificación de ácido ascórbico**

El contenido de ácido ascórbico fue cuantificado de acuerdo al método de Dürüst *et al.* (1997). Los extractos se obtuvieron con 0.3 g de muestra en 10 mL de ácido oxálico (0.4 % p/v), la mezcla se sónico durante 20 min a temperatura ambiente y posteriormente se filtró.

Se mezcló 1 mL de de ácido oxálico, 1 mL del buffer de acetato (pH 3.5) y 8 mL de 2,6-dicloroindofenol (DCIP). Posteriormente, la absorbancia se midió a 520 nm a los 15 s, (L1) para todas las mediciones en un espectrofotómetro GCB, CINTRA 1010, UV-visible (Australia). El espectrofotómetro se reajustó a cero mezclando: 1 mL de ácido ascórbico (diferentes concentraciones o extracto de muestra), 1 mL de buffer de acetato y 8 mL de agua desionizada. Posteriormente, se determinó la absorbancia colocando: 1 mL del estándar o muestra de, 1 mL de buffer de acetato y 8 mL de DCIP (L2).

L1 y L2 fueron las absorbancias de cada concentración con las que se realizó la curva de calibración (10, 20, 30, 40 y 50 mg L⁻¹). Los resultados se expresaron en mg equivalentes de ácido ascórbico (EA) por cada 100 g de muestra peso seco (mg EA 100 g⁻¹ p.s).

Determinación de fenoles totales

Los compuestos fenólicos fueron determinados utilizando el método de Folin-Ciocalteu reportado por (Singleton y Rossi, 1965). Las absorbancias fueron medidas en un espectrofotómetro GCB, CINTRA 1010, UV-visible (Australia), a una longitud de onda de 765 nm. La concentración de fenoles se calculó a partir de una curva estándar preparada a base de ácido gálico a concentraciones de 25, 50, 75, 100 150 y 200 mg L⁻¹. El contenido total de fenoles en el extracto se expresó en mg equivalentes de ácido gálico por 100 g de peso seco de la muestra (mg EAG 100 g⁻¹ p.s).

Determinación de flavonoides

Se realizó de acuerdo a Chang *et al.* (2002), donde las absorbancias se midieron a 415 nm. La concentración de flavonoides se calculó a partir de una curva estándar preparada a base de quercetina con 6 concentraciones de 10 a 300 mg L⁻¹. Los ensayos fueron realizados por triplicado y los resultados fueron expresados en equivalentes de quercetina por 100 g de peso seco de la muestra (mg EQ 100 g⁻¹ p.s).

Determinación de pigmentos fotosintéticos (clorofila y carotenoides)

Se realizó de acuerdo al método de Soltani *et al.* (2019)

las absorbancias fueron medidas en un espectrofotómetro GCB, CINTRA 1010, UV-visible (Australia), a 663 y 645 nm para determinar clorofila a (Ca) y b (Cb) y 470 nm para determinar carotenoides (Cc). Los cálculos fueron obtenidos con la ayuda de las siguientes ecuaciones, los resultados se expresaron en mg por 100 g de fruto en peso seco.

$$\begin{aligned} Ca &= 12.21 A_{665} - 2.81 A_{649} \\ Cb &= 20.13 A_{649} - 5.03 A_{665} \\ Cc &= \frac{1000A_{470} - 3.27 Ca - 104 Cb}{245} \end{aligned}$$

Determinación de la capacidad antioxidante**Obtención del extracto para la cuantificación de la actividad antioxidante**

A 0.5 g del material liofilizado se le agregaron 5 mL de MeOH acuoso al 80 % (v/v), la mezcla se sometió a sonicación durante 20 min a temperatura ambiente. El sobrenadante se separó y se adicionaron 5 mL de MeOH al 80%, nuevamente la mezcla se sometió a sonicación durante 20 min más. Los dos extractos se mezclaron y la mezcla se mantuvo en refrigeración, hasta su análisis.

Capacidad antioxidante por el método del radical ABTS^{•+}

Se realizó de acuerdo Re *et al.* (1999), las absorbancias se midieron a 734 nm. La actividad antioxidante se cuantificó a través de una curva estándar a base de trolox (ácido 6-hidroxi-2, 5, 7, 8-tetrametilcroman-2-carboxílico) de 6 puntos con concentraciones de 10 a 90 mg L⁻¹. Los resultados se expresan en mg equivalente a trolox por cada 100 g de fruto liofilizado (mg ET 100 g⁻¹ p.s).

Capacidad antioxidante por el método del radical DPPH[•]

Se empleó el método propuesto por Kim *et al.* (2004), se preparó una solución del radical DPPH[•] a una concentración de 100 μM en metanol al 80 %. La reacción se llevó a cabo tomando 0.1 mL de muestra + 3.9 mL de la solución de DPPH[•], la mezcla se homogenizó en un vortex a temperatura ambiente, se mantuvo en oscuridad y se midió la absorbancia a 517 nm después de 30 y 60 min. La concentración de DPPH[•] en el medio de reacción se calculó a partir de una curva de calibración elaborada con el antioxidante sintético trolox a concentraciones de 0.08-1.28 mM y a los 30 min y a los 60 min. Los resultados se expresaron en mg equivalentes de Trolox por 100 g de fruto liofilizado (mg ET 100 g⁻¹ p.s).

Cuantificación de capsaicinoides

Para extraer los capsaicinoides (capsaicina y dihidro-capsaicina), se utilizó el método de Collins *et al.* (1995). La identificación de capsaicina y dihidrocapsaicina se realizó con un cromatógrafo de líquidos de alta resolución (HPLC) marca Perkin Elmer serie 200, con detector de UV Flexar (Waltham, Massachusetts). Se utilizó una columna de fase reversa Hypersil gold, C18, 50 x 2.1mm y con tamaño de partícula de 1.9 μm. Las condiciones de operación del HPLC incluyeron temperatura ambiente, velocidad de flujo de la fase móvil 1 mL min⁻¹, la duración de la corrida fue de 12 min.

La fase móvil fue a gradiente isocrático que consistió en 25% del disolvente A (agua 100%) y 75% del disolvente B (acetoni-trilo 100%), se inyectaron 20 μ L y se registró la absorbancia a una longitud de onda de 281 nm.

Análisis estadístico

Los resultados se compararon mediante un análisis de varianza (ANOVA) y comparación de medias por el método LSD, con el software estadístico Statgraphics XVII-X64 para evaluar si existen diferencias estadísticas significativas ($\alpha= 0.05$) entre los inoculantes microbianos y el control. Las variables de respuesta evaluadas fueron: ácido ascórbico, fenoles totales, flavonoides, carotenoides, clorofilas a, b y total, actividad antioxidante, capsaicina y dihidrocapsaicina.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Compuestos bioactivos

Cuantificación de ácido ascórbico

La biofertilización con inoculantes microbianos produjo diversos efectos sobre los compuestos bioactivos, en el fruto de chile xcat'ik (Tabla 3). En el caso del ácido ascórbico se observó que *T. harzianum* y el consorcio microbiano fueron iguales estadísticamente ($P \leq 0.05$) al control, en contraste con los frutos de las plantas inoculadas con *B. subtilis* que mostraron un ligero decremento de este metabolito secundario. Al respecto, Esitken *et al.* (2010) reportaron resultados similares a los nuestros con la inoculación de fresas inoculadas con *pseudomonas* BA-8, *bacillus* OSU-142 y *bacillus* M-3 individualmente o en combinación en donde el contenido de ácido ascórbico fue igual al control; en contraste Cisternas-Jamet *et al.* (2020) obtuvieron incrementos significativos de ácido ascórbico para pimiento verde inoculando tres veces con *Bacillus amyloliquefaciens* en el semillero. Las diferencias con este estudio, aparentemente se deben al mecanismo de interacción de los inoculantes en los pasos de inoculación o el proceso de inoculación, en nuestro estudio la inoculación fue efectuada después del trasplante directamente en la base de la planta una vez cada siete días. Otro aspecto importante a considerar es el efecto que un determinado microorganismo tiene sobre una planta, este efecto puede cambiar dependiendo de las condiciones ambientales, así

Tabla 3. Efecto de agentes inoculantes microbianos sobre el contenido de ácido ascórbico, fenoles y flavonoides en el fruto de chile xcat'ik (*Capsicum annuum* L.).

Table 3. Effect of microbial inoculant agents on xcat'ik pepper fruit (*Capsicum annuum* L.) ascorbic acid, phenols and flavonoids content.

Tratamiento	Ácido ascórbico (g.100g ⁻¹)	Fenoles (mg.100g ⁻¹)	Flavonoides (mg.100g ⁻¹)
Control	27.48 \pm 2.06 ^a	445.61 \pm 5.68 ^a	51.76 \pm 4.43 ^a
<i>B. subtilis</i>	22.83 \pm 1.13 ^b	414.21 \pm 18.77 ^a	48.48 \pm 10.21 ^{ba}
<i>T. harzianum</i>	29.83 \pm 2.10 ^a	417.40 \pm 15.04 ^a	37.88 \pm 3.77 ^{bc}
Consortio microbiano	29.76 \pm 1.52 ^a	408.12 \pm 4.80 ^a	30.78 \pm 2.23 ^c

n=3, medias (\pm D.E) ^{abc} diferentes letras en una misma columna son estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$; LSD).

como de otros parámetros. Los microorganismos pueden afectar a las plantas de forma beneficiosa, dañina o neutra dependiendo del tipo de interacción debido a que los órganos de la planta interactúan con estos microorganismos a lo largo del desarrollo fenológico, formando complejos ensamblajes microbianos (Ogata-Gutiérrez, Zúñiga-Dávila, 2020). El comportamiento de la síntesis del ácido ascórbico con la interacción de los inoculantes microbianos puede producir variación entre resultados y es posible atribuir los cambios a diversos factores. Se ha demostrado que las vías metabólicas de este componente responden a estímulos ambientales como las alteraciones en la densidad de luz, la temperatura, un bajo nivel de oxígeno y algunas heridas que pudiera tener la planta, adicionalmente otro aspecto importante a evaluar en el chile xcat'ik, sería el contenido de azúcares, debido a que la biosíntesis del ácido ascórbico y la ruta dominante para su acumulación es a partir de la glucosa a través de la vía llamada L-galactosa (Wheeler *et al.*, 2015). Asimismo, existen estudios que sustentan que las interacciones hormonales, así como la síntesis de etileno también influyen en la acumulación de este metabolito (Mellidou y Kanellis, 2017). La nula respuesta de los inoculantes microbianos sobre el incremento de ácido ascórbico en el fruto de chile xcat'ik, posiblemente se debe a que los inoculantes microbianos no fueron lo suficientemente capaces de movilizar a las moléculas o de facilitar los mecanismos que inician la biosíntesis de ácido ascórbico. Sin embargo, por los resultados obtenidos en este estudio, el uso de *T. harzianum* y el consorcio microbiano podría presentar varias ventajas en contraste con los fertilizantes químicos, tales como la disminución de costos para la producción del cultivo (Grageda-Cabrales *et al.*, 2012). No existe el riesgo de acumulación de compuestos tóxicos provenientes de los fertilizantes químicos en plantas o frutos, lo que podría disminuir enfermedades de quién los consume a largo plazo, además de que son inocuos para el medio ambiente.

Determinación de compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son el grupo más grande de compuestos antioxidantes por lo que resulta interesante su estudio, son sintetizados cuando la planta los necesita porque juegan un papel importante en su adaptación al ecosistema (Rodríguez *et al.*, 2019). El género *Capsicum* es una fuente rica de estos compuestos bioactivos. Sin embargo, los resultados evidenciaron que no existieron diferencias estadísticas significativas ($P \leq 0.05$) entre tratamientos y el control.

Resultados similares fueron reportados por Lombardi *et al.* (2020), quienes no observaron una respuesta positiva en el incremento de fenoles con la inoculación en plantas de fresa. Por el contrario, Pascale *et al.* (2017), señalaron que la inoculación con *T. harzianum* en uvas incrementó la cantidad de los compuestos fenólicos. En este sentido, Roupheal *et al.* (2017) sugieren que la biosíntesis de estos metabolitos responde al estrés provocado por las bajas temperaturas al comparar dos temporadas de cultivo de alcachofas bioferti-

zadas con consorcios de micorrizas arbusculares (*Rizoglosum intraradices*, *Funneliformis mosseae* y *Trichoderma atroviride*). Observaron un incremento de los compuestos fenólicos en la temporada donde predominaron las bajas temperaturas. En nuestro caso, las altas temperaturas (30 - 40 °C) prevalecieron en la región durante el desarrollo de este estudio, pero no se puede asumir que los fenoles fueron afectados por la temperatura, ya que las diferencias entre los resultados pudieron deberse a diversos factores, como la genética de la planta, las dosis aplicadas de los inoculantes, las técnicas utilizadas, el ambiente, la bioquímica de las interacciones entre otros (Calvo *et al.*, 2014). La reacción clave que vincula el metabolismo fenólico primario con el secundario es la enzima L-fenil alanina amonio liasa, pero la expresión de los genes de esta enzima está controlada por el estado de desarrollo, el tipo de célula y una amplia variedad de factores ambientales (Salveit, 2017). Debido a la complejidad de las vías de biosíntesis de los compuestos fenólicos y sus numerosas interconexiones, hace más difícil comprender estos procesos (Jiménez-Gómez *et al.*, 2020).

Determinación de flavonoides

Otro de los principales grupos de metabolitos secundarios de las plantas son los flavonoides. Su estructura polifenólica tiene diversos efectos bioquímicos y antioxidantes favorables, asociados a la prevención de diversas enfermedades crónico-degenerativas (Panche *et al.*, 2016). En nuestro estudio se encontraron diferencias estadísticas significativas ($P \leq 0.05$), para los contenidos de flavonoides, observándose similitud entre el control y *B. subtilis*, y un decremento con los tratamientos de *T. harzianum* y el consorcio microbiano. En contraste Chandrasekaran *et al.* (2019) reportaron un incremento significativo en el contenido de flavonoides en frutos de tomate inoculados con *B. subtilis*.

Una posible explicación, es la poca capacidad de los inoculantes para intervenir en la síntesis de las enzimas peroxidasa y polifenoloxidasas encargadas de la producción de los flavonoides, además de interferencias que pudieron surgir entre las interacciones del metabolismo de la planta y los inoculantes microbianos. Adicionalmente, la escasa movilidad y disponibilidad de nitrógeno, mineral que está relacionado con el aminoácido fenilalanina, precursor importante para la síntesis de estos metabolitos secundarios (Ortega-García *et al.*, 2015).

En el caso de *T. harzianum*, aunque se ha demostrado que exhibe una gran capacidad para movilizar y absorber nutrientes del suelo, su uso implica la coordinación de numerosas estrategias como la competencia por nutrientes que se considera la más importante y su uso eficaz depende de su capacidad para conseguir energía derivado del metabolismo de carbohidratos (Sood *et al.*, 2020).

Los flavonoides forman parte del grupo de los fenoles que son biosintetizados a partir de carbohidratos, en este sentido se ha informado que algunas cepas de *T. harzianum* codifican un transportador de glucosa que expresa una alta afinidad, aún a concentraciones excepcionalmente bajas

(Benitez *et al.*, 2004). Probablemente *T. harzianum* utiliza este recurso para otros procesos donde los carbohidratos son demandados, lo que finalmente podría hacer que no estén disponibles para la biosíntesis de los flavonoides y de ahí los resultados obtenidos en el presente trabajo.

El proceso exacto o vías de síntesis que ocurren en las plantas son complejos, algunos compuestos bioactivos se ven favorecidos y otros podrían ser rezagados dependiendo de la competencia metabólica que se den entre las cepas de los inoculantes y las plantas (Ramos-Solano *et al.*, 2014).

Determinación de pigmentos fotosintéticos Carotenoides

Los carotenoides son pigmentos que le confieren color a los frutos y tienen propiedades antioxidantes. Los frutos inoculados con *B. subtilis* and *T. harzianum*, mostraron un efecto positivo en el nivel de carotenoides, estos inoculantes microbianos fueron iguales estadísticamente ($P \leq 0.05$) entre sí, pero diferentes al consorcio microbiano que fue estadísticamente ($P \leq 0.05$) igual al control (Tabla 4).

Tabla 4. Efecto de agentes inoculantes microbianos sobre contenido de clorofilas y carotenoides en el fruto de chile xcat'ik (*Capsicum annuum* L.). **Table 4.** Effect of microbial inoculant agents on xcat'ik pepper fruit (*Capsicum annuum* L.) chlorophyll and carotenoids content.

Tratamiento	Clorofila a mg.g ⁻¹	Clorofila b mg.g ⁻¹	Clorofila total mg.g ⁻¹	Carotenoides mg.g ⁻¹
Control	0.017 ± 0.001 ^a	0.023 ± 0.002 ^a	0.039 ± 0.003 ^a	0.628 ± 0.102 ^b
<i>B. subtilis</i>	0.017 ± 0.002 ^a	0.020 ± 0.001 ^{ba}	0.037 ± 0.001 ^a	0.957 ± 0.166 ^a
<i>T. harzianum</i>	0.013 ± 0.00 ^b	0.015 ± 0.02 ^c	0.028 ± 0.002 ^b	1.026 ± 0.077 ^a
Consorcio microbiano	0.012 ± 0.001 ^b	0.017 ± 0.002 ^{bc}	0.029 ± 0.003 ^b	0.603 ± 0.044 ^b

n = 3, medias (± D.E) ^{abc} diferentes letras en una misma columna son estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$; LSD).

Resultados similares fueron reportados por Chandrasekaran *et al.* (2019) para frutos de tomate en donde la inoculación con la cepa de *B. subtilis* CBR05 incrementó el contenido de carotenoides. Por su parte, Copeta *et al.* (2014) no obtuvieron incrementos del contenido de carotenoides en frutos de tomate inoculados con un consorcio microbiano a base de micorrizas. Al igual que Mena-Violante *et al.* (2006), quienes no observaron cambios en los niveles de carotenoides al inocular frutos de chile ancho (*Capsicum annuum* L. cv. San Luis) con consorcios microbianos a base de *Glomus fasciculatum*, *G. constrictum*, *G. geosporum* y *G. tortuosum*, en contraste con otro consorcio microbiano a base de *G. aggregatum*, *G. deserticola*, *G. geosporum*, *G. microaggregatum* y *S. coremioides* donde encontraron un incremento de este metabolito secundario en los frutos de chile ancho. Las diferencias podrían deberse a la variación genética de los cultivos evaluados, a las complejas interacciones que se dan entre el inóculo y la planta que podrían no ser iguales en cuanto a la movilidad de nutrientes por ejemplo, la movilidad del nitrógeno que es un factor importante en la producción de los carotenoides (Arimboor *et al.*, 2014).

Este tipo de metabolitos están involucrados en procesos importantes como la foto protección, estrés y fotosíntesis, adicionalmente son precursores de la vitamina A y también se ha reportado que algunos compuestos carotenoides evitan que los humanos desarrollen ciertos tipos de cáncer y enfermedades cardiovasculares. Además protegen a la planta contra el daño foto oxidativo y la ayudan a mantener su estructura. La biodisponibilidad de estos pigmentos está influenciada por factores dietéticos incluyendo el tipo y la cantidad de los carotenoides consumidos y la naturaleza de los alimentos que los contengan, el almacenamiento poscosecha, prácticas de procesamiento y cocción de los alimentos (Shumskaya y Wurtzel, 2013; Arimboor *et al.*, 2014; Park *et al.*, 2017).

Consideramos que la información generada en el presente estudio ofrece la oportunidad de mejorar la calidad nutracéutica del chile xcat'ik al incrementar el contenido de los carotenoides inoculando con *B. subtilis* y *T. harzianum* y dadas las propiedades que se le atribuyen a estos metabolitos secundarios, los frutos podrían proporcionar un efecto positivo en la salud humana.

Clorofilas

En relación a los niveles de clorofila, se encontró variación estadística ($P \leq 0.05$) entre los tratamientos. Los frutos obtenidos de plantas fertilizadas con *B. subtilis* fueron similares al control en los contenidos de clorofilas a y b. Sin embargo, con la inoculación de *T. harzianum* y el consorcio microbiano se observó un decremento en el contenido de estos pigmentos (Tabla 4). Resultados similares a los nuestros fueron reportados por Cisternas-Jamet *et al.* (2020) en estudios realizados con *C. annuum* inoculados con *B. amyloliquefaciens* en diferentes estados de madurez y donde el efecto de la inoculación tampoco incrementó los contenidos de clorofila. Una posible explicación de los resultados obtenidos en nuestro trabajo podría ser que la síntesis de las clorofilas requiere de la presencia de luz y en consecuencia los inoculantes podrían verse afectados por la luz (Cruz, 2016). Otro factor importante a considerar es la presencia del Mg, el principal componente de la molécula de clorofila, es probable que la movilidad por efecto de los inoculantes microbianos a través del sistema radicular de la planta no haya sido efectiva (Sood *et al.*, 2020). También se sabe que a medida que la madurez del fruto avanza se produce una degradación de la molécula de clorofila, pero este mecanismo hace que se expresen otros pigmentos como los carotenos (Hörtensteiner y Kräutler, 2011). Esto concuerda con nuestros resultados en donde destaca el contenido de carotenoides en relación con la clorofila.

Determinación de la actividad antioxidante

En la Tabla 5 se puede observar que la inoculación microbiana influyó positivamente en los contenidos de la actividad antioxidante, la cual es capaz de reducir las reacciones en cadena que son dañinas para el ser humano. Aparentemente el consorcio microbiano actuó mejor como

Tabla 5. Efecto de agentes inoculantes microbianos sobre la actividad antioxidante del fruto de chile xcat'ik (*Capsicum annuum* L.).

Table 5. Effect of microbial inoculant agents on xcat'ik pepper fruit (*Capsicum annuum* L.) antioxidant activity.

Tratamiento	DPPH [•] μmol 100g ⁻¹ 30 min	DPPH [•] μmol 100g ⁻¹ 60 min	ABTS ^{•+} μmol 100g ⁻¹ 1 min	ABTS ^{•+} μmol 100g ⁻¹ 7 min
Control	169.62 ±3.50 ^c	373.30 ±31.02 ^b	532.74 ±26.33 ^c	741.53 ±43.07 ^c
<i>B. subtilis</i>	326.26 ±65.25 ^b	455.60 ±70.59 ^b	591.66 ±13.16 ^{ab}	875.36 ±14.95 ^a
<i>T. harzianum</i>	320.00 ±29.40 ^b	447.03 ±41.74 ^b	619.74 ±21.50 ^a	899.93 ±39.10 ^a
Consortio microbiano	417.95 ±14.99 ^a	569.9 ±14.19 ^a	565.66 ±11.50 ^{bc}	809.63 ±10.80 ^b

n=3, medias (± D.E) ^{abc}diferentes letras en una misma columna son estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$; LSD).

regulador de la síntesis de los compuestos antioxidantes por el método del DPPH[•], en donde presentó variación estadística ($P \leq 0.05$) entre tratamientos y se observó un incremento de la actividad antioxidante a los 30 y 60 min en el fruto de chile xcat'ik, seguido de *B. subtilis* and *T. harzianum*.

Chandrasekaran *et al.* (2019) reportaron resultados similares a los nuestros para tomate (*Solanum lycopersicum*) utilizando *B. subtilis* como inóculo. Los frutos mostraron un incremento en la actividad antioxidante por el método del DPPH[•] y el ABTS^{•+} con respecto a frutos comerciales y un testigo sin inoculación. Del mismo modo, Pascale *et al.* (2017) registraron incrementos en la actividad antioxidante con la inoculación de *T. harzianum* en frutos de uva.

Por otra parte, los tratamientos con *B. subtilis* y *T. harzianum* mostraron altos niveles de la actividad antioxidante en comparación con el control con el método del radical ABTS^{•+} en ambos tiempos (1 y 7 min).

Los radicales DPPH[•] y ABTS^{•+} tienen un electrón desapareado con una absorción característica, que disminuye significativamente con la exposición a captadores de protones (Lee *et al.*, 2015). Estos ensayos están basados en una reacción redox la cual involucra la transferencia de electrones, en donde los diferentes compuestos antioxidantes presentes en la muestra donan uno o dos electrones para reducir a los radicales o cationes (DPPH[•] o ABTS^{•+}) indicando una medida precisa de la capacidad antioxidante con la finalización de la reacción (Wootton-Beard *et al.*, 2011). En este caso el radical ABTS^{•+} demostró ser más sensible porque la cinética de reacción fue más rápida y su respuesta a los compuestos antioxidantes fue mejor.

En el presente estudio hemos evaluado la actividad antioxidante a través de dos métodos de determinación. Se ha indicado que ningún método es suficiente para estimarla por los complejos mecanismos que se involucran, por lo tanto, es necesario un método complementario. En este contexto, es posible que el consorcio microbiano promueva la síntesis de moléculas antioxidantes con carácter hidrofílico y *B. subtilis* y *T. harzianum* le den preferencia a la síntesis de moléculas con carácter lipofílico. Esto se explica porque el método del DPPH[•] engloba la determinación de las moléculas hidrofílicas

y el método del ABTS⁺ da preferencia a la determinación de los antioxidantes lipofílicos (Li *et al.*, 2014).

Por los resultados encontrados respecto a los contenidos de ácido ascórbico, fenoles totales y flavonoides en el chile xcat'ik, es probable que parte de esta actividad antioxidante sea por acción de los carotenoides y posiblemente el chile xcat'ik posea otros agentes antioxidantes como las antocianinas, vitamina E, tocoferoles, saponinas, terpenoides, triterpenos, alcaloides, taninos, xantonas, lactonas y ácidos orgánicos; metabolitos secundarios a los cuáles también se les puede atribuir una alta actividad antioxidante (Hidalgo *et al.*, 2010; Xu *et al.*, 2010; Tag *et al.*, 2014). De esta manera resulta de interés ampliar los estudios sobre otras moléculas antioxidantes en este cultivo.

Cuantificación de capsaicinoides

Los inoculantes microbianos fueron estadísticamente iguales entre sí (P ≤ 0.05) para los contenidos de capsaicina, pero diferentes al control quien fue predominante. En contraste, para los contenidos de dihidrocapsaicina no existieron diferencias estadísticas significativas (P ≤ 0.05) entre los inoculantes microbianos y el control (Tabla 6).

La variación en el comportamiento de los inoculantes podría atribuirse a que, durante el proceso de interacción entre estos y las plantas se provoca una modulación en el mecanismo molecular para activar redes a nivel de enzimas, metabolitos y genes que pueden expresarse de diversas formas (Singh *et al.*, 2020), Por otra parte, la concentración de capsaicinoides también depende del genotipo y la interacción ambiental (Gurung *et al.*, 2011), en donde destacan las condiciones ambientales y la nutrición de las plantas, la respuesta de los inoculantes en los cultivos depende de la planta hospedera, la ubicación geográfica del cultivo, las estaciones climáticas, prácticas agrícolas, tipo de cepas bacterianas, fertilidad del suelo y la interacción con la microflora nativa del suelo, entre otros factores bióticos y/o abióticos (Debnath *et al.*, 2019).

Como se pudo observar con las prácticas empleadas en este estudio no todas las variables evaluadas tuvieron un efecto positivo. Sin embargo, es necesario identificar los factores que tienen poca o ninguna respuesta hacia la mejora de los cultivos o la calidad de los frutos con el fin de ajustar dosis, microorganismos, mezclas, uso total o parcial

Tabla 6. Efecto de agentes inoculantes microbianos sobre contenido de capsaicinoides en el fruto de chile xcat'ik.

Table 6. Effect of microbial inoculant agents on xcat'ik pepper fruit (*Capsicum annuum* L.) capsaicinoids content.

Tratamiento	Capsaicina (mg kg ⁻¹)	Dihidrocapsaicina (mg kg ⁻¹)
Control	355.14±17.67 ^a	176.55±2.29 ^a
<i>B. subtilis</i>	269.80±48.67 ^b	174.36±0.31 ^a
<i>T. harzianum</i>	236.24±22.65 ^b	186.82±12.59 ^a
Consorcio microbiano	251.40±46.51 ^b	189.57±17.60 ^a

n=3, medias (± D.E) con diferentes letras en una misma columna son estadísticamente diferentes (P < 0.05; LSD).

entre otros factores. Una producción efectiva dependerá de muchos factores, pero cuanto mejor conozcamos el funcionamiento de cada uno de ellos, más cerca estaremos del uso eficiente de los inoculantes microbianos y mejorar su aprovechamiento.

CONCLUSIONES

Los inoculantes microbianos presentaron diferentes comportamientos en las variables evaluadas tanto *Bacillus subtilis* como *Trichoderma harzianum*, donde demostraron versatilidad para incrementar el contenido de carotenoides y la actividad antioxidante por el método del ABTS⁺ (1 y 7 min) en el chile xcat'ik (*Capsicum annuum* L.), mientras que el consorcio microbiano incrementó la actividad antioxidante mediante el método del DPPH (30 y 60 min). Este estudio ayudó a evidenciar que los inoculantes microbianos pueden ser utilizados para manipular las concentraciones del contenido de carotenoides y la actividad antioxidante en el chile xcat'ik. Estos hallazgos resultan de importancia porque estos metabolitos secundarios son de interés ya que podrían promover un efecto positivo en la salud humana.

REFERENCIAS

Arimboor, R., Natarajan, R.B., Ramakrishna-Menon, K., Chandrasekar, L.K., Moorkoth, V. 2014. Red pepper (*Capsicum annuum*) carotenoids as a source of natural food colors: analysis and stability- a review. *J Food Sci. Technol.* 52: 1258-1271.

Baslam, M., Garmendia, I., Goicoechea N. 2011. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) improved growth and nutritional quality of greenhouse-grown lettuce. *J. Agric. Food Chem.* 59: 5504-5515.

Calvo, P., Nelson, L., Kloepper, J.W. 2014. Agricultural uses of plant bio stimulants. *Plant Soil.* 383: 3-41.

Chandrasekaran, M., Chun, S.C., Oh J.W., Paramasivan M., Saini, R.K., Sahayarayan, J.J. 2019. *Bacillus subtilis* CBR05 for tomato (*Solanum lycopersicum*) fruits in South Korea as a Novel Plant Probiotic Bacterium (PPB): implications from total phenolics, flavonoids, and carotenoids content for fruit quality. *Agronomy.* 9: 1-11.

Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M., Chern, J.C. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *J Food Drug Anal.* 10: 178-182.

Chatterjee, R., Koner, S., Datta, S. 2019. Impact of Microbial Inoculants on the Performance of Bell Pepper (*Capsicum annuum* L.) Varieties under Foot Hills of Eastern Himalayan Region. *Int. J Curr. Microbiol. Appl.* 5: 131-138.

Cisneros-Pineda, O., Torres-Tapia, L.W., Gutiérrez-Pacheco, L.C., Contreras-Martín, F., Gonzáles-Estrada, T., Peraza-Sánchez, S. 2007. Capsaicinoids cuantification in pepper peppers cultivated in the state of Yucatán México. *Food Chem.* 104: 1755-1760.

Cisternas-Jamet, J.R. Salvatierra-Martínez., A. Vega-Gálvez., A. Stoll., Uribe, E., Goñih, M.G. 2020. Biochemical composition as a function of fruit maturity stage of bell pepper (*Capsicum annuum*) inoculated with *Bacillus amyloliquefaciens*. *Sci. Hortic-Amsterdam*, 263: 1-9.

- Collins, D.M., Wasmund, M.L.M., Osland, P.W.B. 1995. Improved method for quantifying capsaicinoids in *Capsicum* using high performance liquid chromatography. *Hortscience*, 30: 137-139.
- Coppeta, A., Bardi, L., Bertolone, E., Berta, G. 2014. Fruit production and quality of tomato plants (*Solanum lycopersicum* L.) are affected by green compost and arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Biosist*, 1: 106-115.
- Cruz, A.F. 2016. Effect of light-emitting diodes on arbuscular mycorrhizal fungi associated with bahiagrass (*Paspalum notatum* Flüggé) and millet [*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br]. *Bioagro*, 28: 163-170.
- Debnath, S., Rawat, D., Kumar-Mukherjee, A., Adhikary, S., Kundu, R. 2019. Applications and Constraints of Plant Beneficial Microorganism in Agriculture. Mahyar-Mirmajlessi S., Radhakrishnan R (eds.) *Biostimulants in Plants Science*. IntechOpen, p. 2-25.
- Dürüst, N., Dogan, S., Dürüst, Y. 1997. Ascorbic acid and element contents of food of Trabzon (Turkey). *J Agric. Food Chem.* 45: 2085-2087.
- Esitken, A., Yildiz, H.E., Ercisli, S., Donmez, M.F., Turan, M., Gunes, A. 2010. Effects of plant growth promoting bacteria (PGPB) on yield, growth and nutrient contents of organically grown strawberry. *Sci Hortic-Amsterdam*, 124: 62-66.
- Gurung, T., Techawongstein, S., Suriharn, B., Techawongstein, S. 2011. Impact of Environments of the Accumulation of Capsaicinoids in *Capsicum* spp. *Hortscience*. 46: 1576-1581.
- Hidalgo, M., Sánchez-Moreno, C., Pascual-Teresa, S. 2010. Flavonoid-flavonoid interaction and its effect on their antioxidant activity. *Food Chem.* 121: 691-696.
- Hörtensteiner, S., B. Kräutler. 2011. Chlorophyll breakdown in higher plants. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) Bioenergetics*. 1807: 977-988.
- Jiménez-Gómez, A., García-Estévez, I., García-Fraile, P., Escribano-Bailón, M.T., Rivas, R. 2020. Increase in phenolic compounds of *Coriandrum sativum* L. after the application of a *Bacillus halotolerans* biofertilizer. *J Sci. Food Agric.* 100: 2742-2749.
- Karppinen, K., Zoratti, L., Nguyenquynh, N., Häggman, H., Jaakola, L. 2016. On the Developmental and Environmental Regulation of Secondary Metabolism in *Vaccinium* spp. *Berries*. *Front. Plant Sci.* 7: 1-9.
- Khalid, M., Hassani, D., Bilal, M., Asad, F., Huang, D. 2017. Influence of bio-fertilizer containing beneficial fungi and rhizospheric bacteria on health promoting compounds and antioxidant activity of *Spinacia oleracea* L. *Botanical Studies*, 58: 1-9.
- Kim, H.J., Chen F., Wu, C., Wang, X., Chung, H.Y., Jin, Z. 2004. Evaluation of antioxidant activity of Australian tea tree (*Melaleuca alternifolia*) oil and its components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52: 2849-2854.
- Lee, K.J., Oh, Y.C., Cho, W.K., Ma, J.Y. 2015. Antioxidant and anti-inflammatory activity determination of one hundred kinds of pure chemical compounds using offline and online screening HPLC assay. *Evidence Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015: 1-13.
- Li, J., Zhu, Z., Gerendás, J. 2014. Effects of nitrogen and sulfur on Total phenolics and antioxidant activity in two genotypes of leaf mustard. *Journal of Plant Nutrition*, 31: 1642-1655.
- Lombardi, N., Caira, S., Troise, A.D., Scaloni, A., Vitaglione, P., Vinale, F., Marra, R., Salzano, A.M., Lorito, M., Woo, S.L. 2020. *Trichoderma* Applications on Strawberry Plants Modulate the Physiological Processes Positively Affecting Fruit Production and Quality. *Front. Microbiol.* 11: 1-17.
- Mellidou, I., Kanellis, A. 2017. Genetic Control of Ascorbic Acid Biosynthesis and Recycling in Horticultural Crops. *Front. Chem.* 5: 1-8.
- Mena-Violante, H.G., Ocampo-Jiménez, O., Dendooven, L., Martínez-Soto, G., González-Castañeda, J., Davies, Jr. F.T., 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.
- Ógata-Gutiérrez, K., Zúñiga-Dávila, D. 2020. Bacteria-Plant interactions: an added value of microbial inoculation. *Rev. Peru Biol.* 27: 21-25.
- Ortega-García, J.G., Montes-Belmont, R., Rodríguez-Monroy, M., Ramírez-Trujillo, J.A., Suárez-Rodríguez, R., Sepúlveda-Jiménez, G. 2015. Effect of *Trichoderma asperellum* applications and mineral fertilization on growth promotion and the content of phenolic compounds and flavonoids in onions. *Sci. Hortic-Amsterdam*, 195: 8-16.
- Panche, A.N., Diwan, A.E., Chandra, S.R. 2016. Flavonoids: an overview. *J Nut. Sci.* 5: 1-15.
- Park, Y.J., Park, S.Y., Valan-Arasu, M., Al-Dhabi N.A., Ahn, H.G., Kim, J.K., SU Park. 2017. Accumulation of carotenoids and metabolic profiling in different cultivars of tagetes flowers. *Molecules*, 22: 1-14.
- Pascale, A., Vinale, F., Manganiello, G., Nigro, M., Lanzuise, S., Ruocco, M., Marra, R., Lombardi, N., Woo, S.L., Lorito, M. 2017. *Trichoderma* and its secondary metabolites improve yield and quality of grapes. *J Crop Prot.* 92: 176-181.
- Pylac, M., Oszust, K., Frąc, M. 2019. Review report on the role of bioproducts, biopreparations, biostimulants and microbial inoculants in organic production of fruit. *Rev environ. Sci. BioTech.* 18: 597-616.
- Ramos-Solano, B., García-Villaraco, A., Gutiérrez-Mañero, F.J., Lucas, J.A., Bonilla, A. 2013. Annual changes in bioactive contents and production in field-grown blackberry after inoculation with *Pseudomonas fluorescens*. *Plant Physiol. Biochem.* 74: 1-8.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.* 26: 1231-1237.
- Rodrigues, C.A., Nicácio, A.E., Jardim, I.C.S.F., Visentainer, J.V., Maldaner, L. 2019. Determination of phenolic compounds in red sweet pepper (*capsicum annum* l.) using a modified QuEChERS method and UHPLC-MS/MS analysis and its relation to antioxidant activity. *J Braz Chem. Soc.* 30: 1229-1240.
- Rouphael, Y., Collab, G., Grazianic, G., Ritienic, A., Cardarellid, M.A. 2017. Phenolic composition, antioxidant activity and mineral profile in two seed-propagated artichoke cultivars as affected by microbial inoculants and planting time. *Food Chem.* 234: 10-19.
- Russo, V.M., Perkins, V.P. 2010. Yield and nutrient content of bell pepper pods from plants developed from seedlings inoculated, or not, with microorganisms. *Hort. Sci.* 45: 352-358.
- Salveit, M.E. 2017. Synthesis and Metabolism of Phenolic Compounds. Chapter 5. *Fruit and Vegetable Phytochemicals: Chemistry and Human Health*, 2nd Edition, Edit. Elhadi M Yahia.

- Shumskaya, M., Wurtzel, E.T. 2013. The carotenoid biosynthetic pathway: thinking in all dimensions. *Plant Sci.* 208: 58-63.
- Silva, L.R., Azevedo, J., Pereira, M.J., Carro, L., Velázquez, E., Peix, A., Valentao, P., Andrade, P.B. 2014. Inoculation of the nonlegume *Capsicum annuum* (L.) with *Rhizobium* strains. 1. Effect on bioactive compounds, antioxidant activity, and fruit ripeness. *J. Agric. Food Chem.* 62: 557-564.
- Singh, D.P., Singh, V., Gupta, V.K., Shukla, R., Prabha, R., Sarma, BK., Patel, J.S. 2020. Microbial Inoculation in Rice Regulates Antioxidative Reactions and Defense Related Genes to Mitigate Drought Stress. 10: 1-17.
- Singleton, V.L., Rossi, J.A Jr. 1965. Colorimetric of total phenolic with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic.* 16: 144-158.
- Soltani, A., Weraduwege, S.M., Sharkey, T., Lowry, D. 2019. Elevated temperatures cause loss of seed set in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) potentially through the disruption of source-sink relations ships. *BMC Genomics*, 20: 1-18.
- Sood, M., Kapoor, D., Kumar, V., Sheteiwy, M.S., Ramakrishan, M., Landi, M., Franiti, A., Sharma, A. 2020. *Trichoderma*: The "Secrets" of a Multitalented Biocontrol Agent. *Plants.* 9: 2-25.
- Tag, H.M., Kelany, O.E., Tantawy, H.M., Fahmy, A.A. 2014. Potential anti-inflammatory effect of lemon and hot pepper extracts on adjuvant-induced arthritis in mice. *J Basic Appl. Zoo.* 67: 149-157.
- Wheeler, G., Ishikawa, T., Pornsaksit, V., Smirnov, N. 2015. Evolution of alternative biosynthetic pathways for vitamin C following plastid acquisition in photosynthetic eukaryotes. *Elife* 4: 2104-2105.
- Wootton-Beard, P., Moran, A., Ryan, L. 2011. Stability of the total antioxidant capacity and total polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices before and after in vitro digestion measured by FRAP, DPPH, ABTS and Folin-Ciocalteu methods. *Food Res Int.* 44:217-224.
- Xu, C., Zhang, Y., Cao, L., Lu, J. 2010. Phenolic compounds and antioxidant properties of different grape cultivars grown in China. *Food Chem.* 119: 1557-1565.
- Zeb, A., Imran, M. 2019. Carotenoids, pigments, phenolic composition and antioxidant activity of *Oxalis corniculata* leaves. *Food Biosci.* 32: 1-9.
- Zhao, Y., Zhang, M., Yang, W., Di, H.J., Ma, L., Liu, W., Li, B. 2019. Effects of microbial inoculants on phosphorus and potassium availability, bacterial community composition, and pepper growth in a calcareous soil: a greenhouse study. *J Soils Sediments.* 19: 3597-3607.