



## EFFECTO NEGATIVO DEL RIEGO SALINO EN COMPONENTES DEL RENDIMIENTO Y FITOQUÍMICOS DE CHILE (*Capsicum annuum*) INOCULADO CON HONGOS MICORRÍMICOS ARBUSCULARES

### NEGATIVE EFFECT OF SALINE IRRIGATION ON YIELD COMPONENTS AND PHYTOCHEMICALS OF PEPPER (*Capsicum annuum*) INOCULATED WITH ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI

Graciela L. Grimaldo-Pantoja<sup>1</sup>, Genhua Niu<sup>2</sup>, Youping Sun<sup>2</sup>, Arturo Castro-Rocha<sup>1</sup>, Emilio Alvarez-Parrilla<sup>1</sup>, Juan P. Flores-Márquez<sup>1</sup>, Baltazar Corral-Díaz<sup>1</sup> y Pedro Osuna-Ávila<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Ciencias Químico Biológicas, Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. Anillo Envoltente y Estocolmo s/n. 32310, Ciudad Juárez, Chihuahua, México. <sup>2</sup>Texas A&M AgriLife Research Center at El Paso. 1380 Texas A&M Circle. 79927-5020, El Paso, Texas, United States, Tel 915 859 9111.

\*Autor para correspondencia (posuna@uacj.mx)

#### RESUMEN

Se evaluó el efecto de dos consorcios de hongos micorrícicos arbusculares (HMA) aislados de plantas de huizache (*Acacia* sp.) (HMA1) y de una asociación entre *Larrea tridentata* y *Opuntia* sp. (HMA2), nativas del desierto Chihuahuense, en los componentes del rendimiento y fitoquímicos en plantas de chile Jalapeño var. M crecidas bajo estrés salino en condiciones de invernadero. El diseño experimental constó de dos factores: HMA (HMA-, HMA1 y HMA2), y salinidad (testigo, 4 y 8 dS m<sup>-1</sup>) de una solución de NaCl y CaCl<sub>2</sub>, con nueve repeticiones por tratamiento. El número de esporas fue contabilizado y las plantas se inocularon con 40,000 esporas. La solución salina se aplicó 30 d después de la inoculación durante ocho semanas. El fósforo se aplicó con una solución de 44 mg L<sup>-1</sup> de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> a las plantas sin inocular y de 22 mg L<sup>-1</sup> a las plantas inoculadas. La micorrización al final del experimento osciló entre 22 y 32 % en las plantas inoculadas. La salinidad afectó significativamente el desarrollo y el verdor de las plantas. Aunque el factor HMA tuvo un efecto negativo en el número de frutos, no se afectó el rendimiento en el peso fresco de los frutos. La salinidad tuvo un efecto negativo en el peso fresco de los frutos. Los HMA incrementaron significativamente el contenido de fósforo y ácido ascórbico, sin verse afectados el desarrollo y fisiología de la planta a pesar de la reducción en la cantidad de fósforo exógeno aplicado. La concentración de fósforo en los frutos fue mayor en las plantas inoculadas con HMA2. A mayor salinidad, los frutos tuvieron menor concentración de ácido ascórbico pero mayor concentración de fenoles totales en los frutos. El contenido de capsaicinoides no fue afectado por ninguno de los factores estudiados.

**Palabras clave:** *Capsicum annuum*, cv. Jalapeño, micorriza, estrés abiótico.

#### SUMMARY

The effect of two consortia of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) isolated from huizache (*Acacia* sp.) plants (HMA1) and an association between *Larrea tridentata* and *Opuntia* sp. (HMA2), both native of the Chihuahuan Desert, on the yield components and fruit phytochemical content of Jalapeño var. M pepper plants (*Capsicum annuum* L.) subjected to saline stress, was evaluated under greenhouse conditions. The experiment had two factors: AMF (HMA-, HMA1 and HMA2) and salinity levels (control, 4 and 8 dS m<sup>-1</sup>) of a NaCl and CaCl<sub>2</sub> solution. Each treatment had nine replications. The number of spores per gram

of soil were counted and pepper plants were inoculated with 40,000 spores each. Salinity was applied 30 d after the inoculation for eight consecutive weeks. Phosphorus was applied with a solution of 44 mg L<sup>-1</sup> of KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> for non-inoculated plants and 22 mg L<sup>-1</sup> for inoculated ones. Colonization at the end of the experiment oscillated between 22 and 32 % in inoculated plants. The AMF factor had a negative effect on the number of fruits, however yields were not affected regarding fresh fruit weight. Salinity had a negative effect on fresh fruit weight. AMF significantly increased the content of phosphorus and ascorbic acid, without affecting the development and physiology of the plant in spite of the reduced amount of exogenous phosphorus applied. Phosphorus concentration was higher in plants inoculated with HMA2. The factors salinity and AMF had a significant effect on the concentration of phenols and ascorbic acid in the fruits. Higher salinity decreased the concentration of ascorbic acid in fruits but increased the concentration of total phenols. The content of capsacinoids was not affected by any of the factors.

**Index words:** *Capsicum annuum*, cv. Jalapeño, mycorrhiza, abiotic stress.

#### INTRODUCCIÓN

En la región árida del Noroeste de Chihuahua, la producción de chile (*Capsicum annuum* L.) es una de las principales actividades económicas (SIAP, 2015). La salinidad es un factor ambiental limitante para el crecimiento de las plantas. Las plantas de chile son sensibles a este estrés que afecta su producción (Azuma et al., 2010). Altas concentraciones de sal en el suelo y agua reducen la absorción de agua y nutrientes e inhiben procesos metabólicos y afecta la captación de nutrientes. Una alternativa que puede ayudar a las plantas contra este tipo de estrés es el uso de hongos micorrícicos arbusculares (HMA) (Kumar et al., 2015). Los HMA se asocian con más de 80 % de las plantas terrestres (Smith y Read, 2008). Esta asociación mutualista ayuda a mejorar la captación de fósforo y agua e incrementa la tolerancia contra estrés biótico y abiótico (Sharif y Claassen, 2011).

En plantas de chile (*C. annum* L. cv. California Wonder 300) se ha evaluado *Rhizophagus intraradices* en diferentes concentraciones de NaCl (0, 50, 100 y 200 mM). Las plantas del tratamiento testigo tenían más contenido de sodio en los tejidos; y la biomasa de la parte aérea y de la raíz fue mayor en las plantas inoculadas con el hongo. En ambos tratamientos se observó un incremento en la cantidad de prolina a mayor salinidad (Beltrano *et al.*, 2013). Otro estudio realizado en *C. annum* cv. 11B 14 evaluó el efecto de *Glomus clarum* en condiciones de alta salinidad. Se detectó que la salinidad disminuyó la concentración de fósforo, nitrógeno y potasio en plantas tratadas, así como en tallo y raíz; sin embargo, en las plantas inoculadas con el HMA el contenido de los nutrientes fue igual al de las plantas sin sal y se redujo la pérdida de electrolitos a través de la membrana celular (Kaya *et al.*, 2009).

Existe limitada información sobre la planta de chile en respuesta a la salinidad y no hay estudios de la inoculación con HMA del Desierto Chihuahuense en chile Jalapeño M que se cultiva en la región. El objetivo fue evaluar el efecto de estos microorganismos sobre los componentes del rendimiento y cantidad de fitoquímicos en los frutos verdes de chile Jalapeño en condiciones de riego salino en invernadero y durante tres cosechas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Material fúngico

Consortios de HMA fueron recolectados en febrero del 2014 en el Desierto Chihuahuense a orillas del condado de El Paso, Texas. Los consorcios fueron recolectados de rizosfera de huizache (*Acacia* sp.) (HMA1) y de una asociación entre *Larrea tridentata* y *Opuntia* sp. (HMA2). Las esporas de los consorcios de HMA se propagaron a través de *Sorghum* sp. y *Triticum* sp. como plantas trampa en macetas de 8 L llenadas con mezcla de rizosfera y arena estéril en una proporción 1:1.

Las plantas se desarrollaron durante tres meses (febrero - abril del 2014) en condiciones de invernadero, fertilizadas semanalmente con 200 mL de solución nutritiva Long Ashton modificada a 22 mg L<sup>-1</sup> de fosfato de potasio monobásico (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>). Pasados los tres meses se recuperó el suelo de las plantas trampa. Se tomaron 50 g de suelo como muestra para la extracción de esporas mediante el método de Gerdemann y Nicolson (1963) y se contabilizó el número de esporas por gramo de suelo con ayuda de un microscopio estereoscópico (Nikon® SMZ-800). La identificación de las especies de HMA de cada consorcio se postergó hasta verificar su potencial biotecnológico.

### Material vegetal

Semillas de chile (*Capsicum annum* L., var. Jalapeño M) se pusieron a germinar, el 2 de mayo del 2014, en celdas de plástico negro de 72 pozos rellenas con sustrato Metro Mix 360 (SunGro® Horticulture., Bellevue, WA, USA). Plántulas de 20 d se trasplantaron a macetas de 7.5 L donde se usó el mismo sustrato. Según el tratamiento, las plantas se inocularon con el mismo número de esporas (40,000 esporas por planta) de HMA1 o HMA2.

Para regular el fósforo (P), las plantas se fertilizaron cada dos semanas con 1 g de fertilizante South West Green Maker el cual carece de P y contiene 8.9 % de nitrógeno en forma de amoníaco, 9.1 % de nitrógeno en forma de urea, 10 % de azufre, 6 % de potasio soluble, 0.02 % de boro, 0.05 % de cobre, 5 % de hierro, 0.05 % de manganeso y 0.05 % de zinc. Para evitar que las plantas fueran afectadas por deficiencia de P, se agregaron 400 mL de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> una vez por semana, a una concentración de 44 mg L<sup>-1</sup> a las plantas sin inocular y de 22 mg L<sup>-1</sup> a las plantas inoculadas con HMA, según los lineamientos establecidos por Davies Jr. *et al.* (2000).

### Tratamientos

Nueve tratamientos (dos factores con tres niveles cada uno) con nueve repeticiones por tratamiento ( $n = 81$ ) fueron empleados para el presente estudio. Para inducir los niveles de salinidad en los riegos se aplicaron semanalmente soluciones de cloruro de sodio (NaCl) y cloruro de calcio (CaCl<sub>2</sub>) en proporción molar de 2:1 y con niveles de conductividad eléctrica (CE) de 4.1 y 8.1. como fue descrito por Niu *et al.* (2012). El regado diario se hizo con agua tratada con osmosis inversa. La solución salina se aplicó 30 d después de que las plantas fueran inoculadas con sus respectivos consorcios de HMA durante ocho semanas consecutivas. Se monitoreó la conductividad eléctrica (CE) y el pH de la solución del sustrato. Las temperaturas en el invernadero fueron de 29.7 ± 5.3 °C durante el día y 23.9 ± 3.9 °C durante la noche. La cantidad de luz fotosintéticamente activa en el invernadero fue de 16.2 ± 3.4 mol m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>.

En cada tratamiento se midieron las variables altura, número de hojas totales, área foliar (medida con un medidor de área Li-Cor LI-3100C®, Lincoln, NE, USA), diámetro del tallo, peso fresco y seco de la parte aérea y de la raíz, longitud de la raíz, antes de comenzar a tratar las plantas con el riego salino y al final del experimento.

### Colonización micorrícica

La colonización micorrícica se calculó antes y después de aplicar los riegos salinos mediante el método de

Phillips y Hayman (1970). Raíces de 1 cm se tiñeron con azul de tripano. Se montaron 10 segmentos por portaobjetos con nueve laminillas por tratamiento y se observaron a 40x mediante un microscopio de campo claro (Nikon® SMZ-800). Cada segmento se categorizó con la siguiente escala: 1 (0 % de colonización), 2 (5 % de colonización), 3 (30 % de colonización), 4 (70 % de colonización), 5 (95 % de colonización). Para calcular la intensidad micorrícica se utilizó la siguiente fórmula (Covacevich *et al.*, 2001):

$$M \% = \frac{(n1 + 5n2 + 30n3 + 70n4 + 95n5)}{N}$$

Donde N es el número total de fragmentos observados por tratamiento, y n1, n2, n3, n4 y n5 corresponden al número de raíces que se observaron al utilizar la escala.

### Variables fisiológicas

**SPAD.** El verdor de las hojas se midió con un medidor SPAD (Minolta SPAD 502 Plus Camera Co., Osaka, Japan). Se cuantificó antes de aplicar los riegos salinos y en las semanas dos, cuatro, seis y ocho, durante los riegos salinos, en la tercera y cuarta hojas sanas.

**Intercambio de gases.** La fotosíntesis neta ( $P_n$ ) fue medida antes de aplicar los riegos salinos y en la semana dos, cuatro, seis y ocho de tratamiento, con un sistema portátil de fotosíntesis CIRAS-2 (PP Systems, Amesbury, MA, USA) con celda automática universal PLC6 para hoja ancha. Esta variable se midió en la tercera hoja totalmente expandida. Las condiciones ambientales de la celda se mantuvieron a una temperatura de 25 °C con un flujo de fotones fotosintéticos (PPF) de 1000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  y una concentración de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) de 375  $\mu\text{mol mol}^{-1}$ . Los datos se colectaron cuando las condiciones ambientales y los parámetros del intercambio de gases de la celda fueron estables y días soleados entre las 10:00 y las 12:00 horas en plantas previamente irrigadas.

### Cosecha de los frutos

Debido a que el chile es una hortaliza que se puede cosechar múltiples veces, se realizaron tres cortes durante el experimento en las semanas cinco, siete y ocho de tratamiento. Se cuantificó el número y peso fresco de frutos por planta. Para la cuantificación de fósforo y fitoquímicos sólo se utilizaron frutos sanos de más de 4 cm de largo.

### Contenido de P

Un gramo de chile seco se incineró a 300 °C en una mufla (Fisher Thermolyne™, USA) durante 3 h. A las cenizas se les agregó 1 mL de ácido clorhídrico (HCl) a 37 % y 19 mL de agua destilada. La solución se filtró con papel filtro

Whatman # 42. A 100  $\mu\text{L}$  del filtrado se añadió 2,4-dinitrofenol para ajustar el pH. Luego se añadió 5 mL de ácido cloromolibdico y se aforó a 25 mL con agua destilada. Para finalizar se agregaron 0.05 mL de cloruro estañoso y se incubó por 5 min. La absorbancia se midió a 660 nm en un espectrofotómetro Genesys 20 (Thermo Spectronic™, USA) (Jackson, 1982).

### Fitoquímicos

Se cuantificaron: ácido ascórbico, fenoles totales y capsaicinoides en los frutos. Los frutos se cortaron en rodajas, se congelaron a -80 °C y se liofilizaron por 3 d en un liofilizador (Labconco® freeze dryer / shell freeze system, Labconco Corp., Kansas City, MO, USA). Las muestras liofilizadas fueron homogenizadas y almacenadas a -80 °C hasta su análisis.

**Ácido ascórbico (AA).** A 0.1 g de chiles liofilizados se agregó 2.5 mL de ácido metafosfórico a 5 % y se sonicó en oscuridad durante 20 min. La mezcla se centrifugó a 1780 X g durante 10 min y se colectó el sobrenadante. El sobrenadante se mezcló con 200  $\mu\text{L}$  de ácido tricloroacético (TCA) a 6.65 % y 75  $\mu\text{L}$  de 2,4-dinitrofenilhidracina (DNPH), y se incubó a 37 °C por 3 h. Se agregó 0.05 mL de ácido sulfúrico a 65 %. La absorbancia se midió a 520 nm en un lector de microplacas xMark® (Bio-Rad, Berkeley, CA, USA) con ácido ascórbico como estándar y los resultados se expresaron como mg de AA por cada 100 g de peso seco (González-Aguilar *et al.*, 2008; Oboh y Rocha, 2007).

**Fenoles totales.** Dos gramos de chile liofilizado se mezclaron con 0.5 mL de metanol a 80 % y se sonicaron en oscuridad durante 30 min. La mezcla se centrifugó a 1525 X g por 30 min, y se colectó el sobrenadante, el procedimiento se repitió y los sobrenadantes se mezclaron. Para remover el etanol, el sobrenadante se rotovaporó a 55 °C, y se congeló a -80 °C. Posteriormente se liofilizó durante 48 h.

Para cuantificar, se preparó una disolución de extracto liofilizado y metanol a 80 % a una concentración de 1 mg  $\text{mL}^{-1}$ . Se tomaron 500  $\mu\text{L}$  de disolución y se mezclaron con 2.5 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu (diluido 1:10 con agua destilada) que se dejó en reposo por 2 min. Se agregaron 2 mL de carbonato de calcio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) a 7.5 %, y se incubó a 45 °C por 15 min. Se dejó enfriar a temperatura ambiente y se midió la absorbancia a 760 nm. Se utilizó como estándar ácido gálico, y los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico (EAG) por cada 100 g de peso seco (Alvarez-Parrilla *et al.*, 2011).

**Capsaicinoides.** La extracción y cuantificación de capsaicinoides se llevó a cabo al mezclar chile liofilizado con 10 mL de metanol grado HPLC (> 99.9 %). La mezcla se sonicó

20 min y se centrifugó a 1308 X g durante 5 min para co-  
lectar el sobrenadante. La extracción se repitió una segun-  
da vez con los residuos y se combinaron los sobrenadan-  
tes. La cuantificación se llevó a cabo por cromatografía de  
líquidos de alta presión (HPLC) con fase móvil isocrática  
de acetonitrilo - ácido acético 1 % en proporción 50:50. La  
absorbancia se leyó a 860 nm con con capsaicina como  
estándar, y los resultados se expresaron como mg equiva-  
lentes de capsaicina por cada 100 g de peso seco (Alvarez-  
Parrilla *et al.*, 2011).

Análisis estadístico

El diseño experimental fue factorial con dos factores:  
HMA (HMA-, HMA1 y HMA2), y riego con tres niveles de  
salinidad con conductividad eléctrica de 1.4 (testigo), 4.0 y  
8.0 dS m<sup>-1</sup>. En las variables relacionadas con los frutos se  
consideró el número de cortes como un factor adicional.  
Los datos se analizaron por medio de un ANOVA factorial a  
un α = 0.05, con comparación de medias mediante la prue-  
ba de Tukey a un nivel de confianza a 95 % con el programa  
estadístico SPSS versión 20.0 para Windows.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Colonización micorrícica

La colonización antes de aplicar la salinidad era de 10  
% en los tratamientos inoculados y de 2 % en plantas sin  
inocular. Al final del experimento las plantas inoculadas  
con HMA1 presentaron una colonización entre 22 y 32 %,

mientras que en las plantas inoculadas con HMA2 fue en-  
tre 22 y 28 %. El factor HMA mostró efecto significativo (P  
< 0.05), mientras que los niveles de salinidad no afectaron  
la colonización micorrícica (Cuadro 1). En las plantas sin  
inocular se observó hasta 10 % de colonización.

En este tipo de estudios se puede presentar colonización  
en las plantas sin inocular de hasta 40 % de micorrización  
(Khan *et al.*, 2014). La colonización micorrícica es afecta-  
da cuando se aplica estrés salino. En plantas de chile cv.  
PKM<sub>1</sub> inoculadas con *R. intraradices* y tratadas con NaCl  
a 25 y 50 mM, el porcentaje de colonización disminuyó de  
66 a 24 y 15 %, respectivamente (Selvakumar y Thamizhi-  
nayan, 2011). Cuando se aplicó solución salina de NaCl en  
concentraciones de 100 y 200 mM a plantas de chile (*C.  
annuum* California Wonder 300) inoculadas con *R. intrara-  
dices*, la colonización se redujo de 80 a 65 y 58 %, respecti-  
vamente (Beltrano *et al.*, 2013).

Variables de crecimiento

Después de aplicar durante ocho semanas los niveles  
de salinidad se observaron diferencias significativas en las  
medias de la altura de la planta, número de hojas, área fo-  
liar, diámetro del tallo, peso fresco y seco de la parte aérea  
(Cuadro 2). En el nivel más alto de salinidad (EC 8 dS m<sup>-1</sup>)  
se observó una disminución en las variables antes men-  
cionadas. Esto concuerda con el estudio de Beltrano *et al.*  
(2013), quienes reportaron que el contenido de clorofila y  
el área foliar disminuyeron con la aplicación de solución  
salina en plantas de chile inoculadas con *R. intraradices*.

Cuadro 1. Porcentaje de colonización micorrícica en chile Jalapeño M antes y después de la aplicación del riego salino.

Tratamiento	Colonización micorrícica (%)	
	Antes de los riegos salinos	Después de los riegos salinos
Testigo		
HMA -	2 a	8.6 bA
HMA1 +	10 a	22.5 aA
HMA2 +	10 a	21.7 aA
CE 4 dS m <sup>-1</sup>		
HMA -	2 a	10.0 bA
HMA1 +	10 a	32.0 aA
HMA2 +	10 a	27.9 aA
CE 8 dS m <sup>-1</sup>		
HMA -	2 a	9.6 bA
HMA1 +	10 a	25.8 aA
HMA2 +	10 a	28.7 aA

Medias con letras iguales en la misma columna no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05); las letras en minúscula representan los subgrupos  
formados por el factor micorriza y las letras mayúsculas por el factor salinidad derivados de la prueba de Tukey; HMA- (plantas testigo); HMA1+  
(aislado de *Acacia* sp.); HMA2+ (aislado de *Larrea-Opuntia*); CE: conductividad eléctrica.

En este mismo estudio se observó que el peso seco de la raíz y la parte aérea fue mayor en plantas inoculadas con HMA. Selvakumar y Thamizhiniyan (2011) demostraron que la aplicación de sal disminuyó el peso seco de plantas de chile cv. PKM<sub>1</sub> sin afectar la altura.

**SPAD e intercambio de gases.** Los factores salinidad, HMA y tiempo afectaron significativamente las medias del verdor relativo de las plantas (SPAD) (Cuadro 3). Los valores SPAD disminuyeron con los tratamientos de salinidad, y los valores más bajos se registraron en plantas tratadas con la

salinidad más alta. Los valores también disminuyeron con el tiempo de exposición a la sal. Díaz *et al.* (2013) reportaron que, en plantas sin riego salino, las lecturas del SPAD incrementaron significativamente en plantas inoculadas con HMA con respecto a plantas no inoculadas. Según Niu *et al.* (2010), la salinidad no afectó el contenido relativo de clorofila en hojas de plantas de chile sin inocular con HMA. En intercambio de gases no se detectaron diferencias significativas.

**Frutos.** Los factores HMA y cosechas tuvieron un efecto

**Cuadro 2. Medias de las variables fenológicas de chile Jalapeño M inoculadas con HMA en condiciones de estrés salino durante 8 semanas.**

Tratamiento	NH	Área foliar (cm <sup>2</sup> )	Altura (cm)	DT (mm)	PF (g)	PS (g)
<b>Testigo</b>						
HMA -	364 a	5376.34 ab	87.36 a	17.87 ab	370.7 b	31.7 a
HMA1 +	332 a	5540.52 ab	89.74 a	15.23 ab	397.1 b	34.1 a
HMA2 +	349 a	5335.62 ab	87.43 a	15.17 ab	369.7 b	30.8 a
<b>CE 4 dS m<sup>-1</sup></b>						
HMA -	298 a	5623.73 a	84.81 a	15.42 a	396.6 a	29.3 b
HMA1 +	323 a	5814.90 a	89.99 a	14.19 a	420.2 a	30.5 b
HMA2 +	330 a	5812.12 a	86.76 a	15.69 a	411.1 a	30.3 b
<b>CE 8 dS m<sup>-1</sup></b>						
HMA -	256 b	5164.07 b	78.60 b	14.52 b	382.0 b	27.9 c
HMA1 +	227 b	4897.11 b	80.86 b	14.09 b	346.9 b	25.0 c
HMA2 +	255 b	4939.64 b	78.80 b	14.94 b	354.0 b	25.9 c

Medias sin letras o con letras iguales en la misma columna no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05); las letras en minúscula representan los subgrupos formados por el factor salinidad derivados de la prueba de Tukey; HMA- (plantas testigo); HMA1+ (aislado de *Acacia* sp.); HMA2+ (aislado de *Larrea-Opuntia*); NH: número de hojas; DT: diámetro del tallo; PF: peso fresco de la parte aérea; PS: peso seco de la parte aérea; CE: conductividad eléctrica.

**Cuadro 3. Efecto de la salinidad en el verdor (SPAD) en hojas de chile Jalapeño M.**

Tratamiento	2 semanas con salinidad	4 semanas con salinidad	8 semanas con salinidad
<b>Testigo</b>			
HMA -	59.6 a	56.2 a	40.6 a
HMA1 +	59.6 a	56.8 a	46.1 a
HMA2 +	59.3 a	55.7 a	40.4 a
<b>CE 4 dS m<sup>-1</sup></b>			
HMA -	58 b	54 b	39.0 b
HMA1 +	60 b	54.5 b	42.9 b
HMA2 +	56.8 b	54.7 b	40.3 b
<b>CE 8 dS m<sup>-1</sup></b>			
HMA -	54.5 c	55.3 c	32.5 c
HMA1 +	54.9 c	55.2 c	33.4 c
HMA2 +	55.6 c	53.9 c	37 c

Medias sin letras o con letras iguales en la misma columna no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05); las letras en minúscula representan los subgrupos formados por el factor salinidad derivados de la prueba de Tukey HMA- (plantas testigo); HMA1+ (aislado de *Acacia* sp.); HMA2+ (aislado de *Larrea-Opuntia*); CE: conductividad eléctrica.



significativo en el número de frutos. El número fue disminuyendo con los cortes. En el primer corte se obtuvieron hasta 70 frutos en plantas sin HMA lo cual no presentó diferencias significativas con respecto a la media de 61 frutos por planta de las plantas inoculadas con el consorcio HMA2. Las plantas inoculadas con el consorcio HMA1 fructificaron significativamente menos que las plantas sin inocular, con una media de 55 frutos por planta. En el último corte, el número de frutos disminuyó considerablemente (Cuadro 4).

El peso del fruto fue afectado por el nivel más alto de salinidad y por el número de cortes, ya que en la última cosecha los frutos pesaron menos (Cuadro 4). Plantas inoculadas con HMA tuvieron el mismo peso fresco de frutos que plantas sin inocular, aún, y cuando las plantas sin inocular produjeron más frutos; por lo tanto, los rendimientos no se vieron afectados a pesar de la disminución en el número de frutos. En plantas de chile Valeria inoculadas con *R. intraradices*, Díaz *et al.* (2013) reportaron que los frutos presentaron mayor tamaño y peso. Plantas de chile cv.11B 14 inoculadas con *G. clarum* disminuyeron su rendimiento al aumentar la concentración de sal (Kaya *et al.*, 2009).

**Concentración de P.** En las plantas inoculadas con HMA2 se cuantificó la mayor cantidad de P (32 mg L<sup>-1</sup>) en la primera cosecha. En la segunda cosecha se observó que las plantas sin inocular presentaron la mayor cantidad de P (Figura 1). Cabe destacar que las plantas inoculadas fueron fertilizadas con la mitad de P con respecto a las plantas sin inocular; sin embargo, la concentración en frutos no

se disminuyó sino hasta la segunda cosecha. Se desconoce si la cosecha de los frutos interfiere de alguna manera con la fisiología de la relación micorrícica. Según Kaya *et al.* (2009) la concentración de P en plantas de chile disminuye al incrementar los niveles de NaCl; sin embargo, en plantas inoculadas con *G. clarum* se incrementó la cantidad de este elemento en los tejidos de las plantas.

**Ácido ascórbico (AA).** Los tratamientos con mayor cantidad de este compuesto fueron las plantas inoculadas con HMA1 y las plantas sin inocular. En cambio, se observó una disminución significativa entre los tratamientos con salinidad. Las plantas tratadas con solución salina de 8 dS m<sup>-1</sup> fueron las que presentaron la menor cantidad de AA. A través de las cosechas se observó que las plantas sin inocular presentaron mayor cantidad de AA en el primer corte, mientras que en el segundo hubo una disminución significativa. La cantidad de AA se incrementó en las plantas inoculadas (Cuadro 5).

Estos resultados concuerdan con los reportados por Azuma *et al.* (2010), quienes monitorearon la concentración de ácido ascórbico en los frutos durante 21 d en plantas de chile bajo condiciones de estrés salino, y encontraron que durante los primeros 7 d la concentración de este compuesto incrementó con respecto a las plantas testigo. A partir del día 14 existió una disminución en la concentración, mientras que la cantidad de sodio acumulado aumentó. Se han observado resultados similares en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) expuestas a sequía en donde la concentración de ácido ascórbico disminuye

**Cuadro 4. Número y peso fresco de los frutos observados en las diferentes cosechas en chile Jalapeño M en condiciones de estrés salino.**

Tratamiento	Número de frutos			Peso fresco (g)		
	Primera	Segunda	Tercera	Primera	Segunda	Tercera
<b>Testigo</b>						
HMA -	70 a	36 a	11 a	290.8 A	157.78 A	34 A
HMA1 +	55 b	30 b	15 b	270.66 A	123.04 A	51 A
HMA2 +	61 ab	33 ab	16 ab	279.96 A	125.96 A	57 A
<b>CE 4 dS m<sup>-1</sup></b>						
HMA -	67 a	32 a	8 a	248.92 B	99.36 B	26 B
HMA1 +	61 b	35 b	12 b	195.31 B	122.47 B	36 B
HMA2 +	63 ab	36 ab	9 ab	211.03 B	111.79 B	26 B
<b>CE 8 dS m<sup>-1</sup></b>						
HMA -	59 a	33 a	8 a	196.66 C	85.49 C	19.1 C
HMA1 +	56 b	30 b	7 b	175.83 C	89.43 C	16.88 C
HMA2 +	66 ab	27 ab	11 ab	191.97 C	75.36 C	25.62 C

Medias sin letras o con letras iguales en la misma columna no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05); las letras en minúscula representan los subgrupos formados por el factor HMA y las letras mayúsculas por el factor salinidad derivados de la prueba de Tukey HMA- (plantas testigo); HMA1+ (aislado de *Acacia* sp.); HMA2+ (aislado de *Larrea-Opuntia*); CE: conductividad eléctrica.

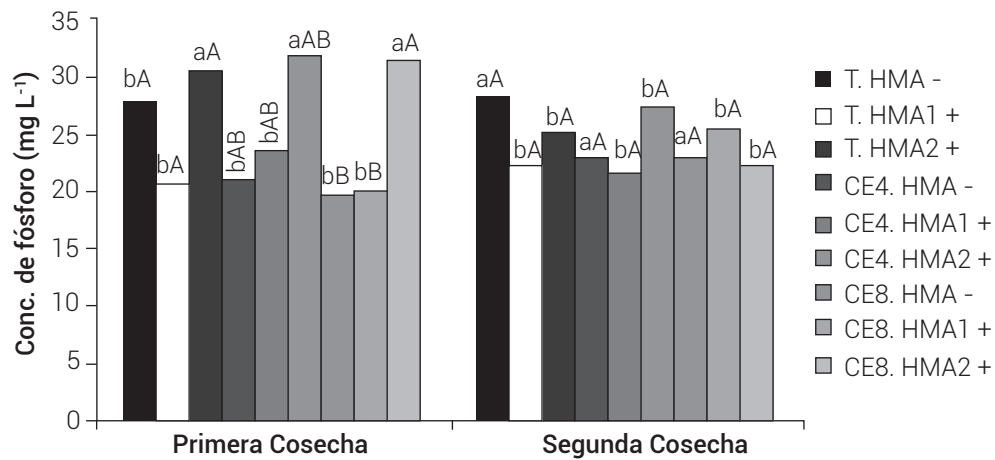


Figura 1. Concentración de fósforo en frutos de chile Jalapeño M en condiciones de estrés salino en las diferentes cosechas. Medias sin letras o con letras iguales en la misma columna no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05); las letras en minúscula representan los subgrupos formados por el factor HMA y las letras mayúsculas por el factor salinidad derivados de la prueba de Tukey HMA- (plantas testigo); HMA1+ (aislado de *Acacia* sp.); HMA2+ (aislado de *Larrea-Opuntia*); CE: conductividad eléctrica.

Cuadro 5. Contenido de fitoquímicos en frutos de chile Jalapeño M en condiciones de estrés salino.

Cosecha	Tratamiento	AA mgAA/100 g PS	FT mgEAG/100 g PS	Capsaicina µg/g PS	DHC g/g PS	CT
Primera	T. HMA -	1896.62 aA	855.52bC	3969.05	89.08	4058.14
	T. HMA1 +	1404.3 bA	798.53 cC	3008.70	82.17	3090.88
	T. HMA2 +	1643.32 aA	825.04 aC	1445.53	65.56	1511.09
	CE4. HMA -	1225.99 aB	673.7 bB	3540.10	111.03	3651.14
	CE4. HMA1 +	1174.14 bB	893.0 cB	9046.06	77.95	9124.02
	CE4. HMA2 +	1715.6 aB	797.57 aB	3212.03	79.38	3291.41
	CE8. HMA -	1132.03 aC	1042.41 bA	4150.31	124.17	4274.49
	CE8. HMA1 +	1163.92 bC	887.7 cA	2840.36	64.94	2905.30
	CE8. HMA2 +	1100.26 aC	989.87 aA	3583.81	92.36	3676.17
Segunda	T. HMA -	982.04 bA	797.08 bC	942.30	15.05	957.35
	T. HMA1 +	2022.11 aA	1792.51 cC	1421.49	19.79	1441.29
	T. HMA2 +	1902.9 aA	626.95 aC	1535.69	19.54	1555.23
	CE4. HMA -	1617.95 bA	1785.04 bB	1265.98	81.48	1367.46
	CE4. HMA1 +	1100.13 aA	1288.22 cB	938.67	20.09	958.76
	CE4. HMA2 +	1753.65 aA	2265.08 aB	816.78	10.35	827.13
	CE8. HMA -	895.1 bB	2862.54 bA	2132.89	37.55	2161.44
	CE8. HMA1 +	1769.66aB	835.64 cA	1282.56	25.61	1308.20
	CE8. HMA2 +	1124.15aB	3888.18 aA	1613.89	23.71	1637.60

Medias sin letras o con letras iguales en la misma columna no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05); las letras en minúscula representan los subgrupos formados por el factor HMA y las letras mayúsculas por el factor salinidad derivados de la prueba de Tukey, HMA- (plantas testigo); HMA1+ (aislado de *Acacia* sp.); HMA2+ (aislado de *Larrea-Opuntia*); AA: ácido ascórbico; FT: fenoles totales; DHC: dihidrocapsaicina; CT: capsaicionoides totales; PS: peso seco; CE: conductividad eléctrica; T = testigo.

con respecto a las plantas sin este tipo de estrés. Por su parte Subramanian *et al.* (2006) detectaron que la cantidad de este compuesto fue mayor en plantas inoculadas con *R. intraradices* en comparación con plantas sin inocular.

**Fenoles totales.** La concentración de fenoles totales en los frutos fue afectada por los tres factores, HMA, salinidad y cosecha. Los tratamientos inoculados con HMA2 presentaron una mayor cantidad de fenoles totales, en comparación con las plantas inoculadas con HMA1. Las plantas tratadas con salinidad presentaron mayor cantidad de fenoles con respecto a las plantas testigo. Entre las cosechas, las plantas sin inocular e inoculadas con HMA2 aumentaron significativamente la cantidad de fenoles en la segunda cosecha (Cuadro 5). Los fenoles son metabolitos secundarios que las plantas producen ante un estrés. La síntesis y acumulación de polifenoles es estimulada ante factores de estrés abiótico como la salinidad.

Estos compuestos se incrementan en diferentes tejidos de la planta, lo que aumenta la cantidad de fenoles totales en condiciones de estrés salino (Ramakrishna y Ravishankar, 2011). Se ha observado el aumento de los compuestos fenólicos ante la presencia de patógenos, como respuesta al estrés. Plantas inoculadas con HMA y con el patógeno *Phytophthora capsici* tuvieron un incremento en el contenido de estos compuestos comparadas con las plantas testigo (Ozgonen *et al.*, 2009). Se puede considerar entonces que la concentración de fenoles totales incrementa como respuesta a cualquier tipo de estrés, sea biótico o abiótico.

**Capsaicinoides.** Solamente en la primera cosecha se registró un efecto significativo de los factores estudiados sobre la capsaicina, dihidrocapsaicina y capsaicinoides totales. Los chiles estudiados presentaron mayor cantidad de capsaicina que de dihidrocapsaicina. Además, la cantidad de estos compuestos disminuyó en la segunda cosecha (Cuadro 5). La cantidad de capsaicinoides totales concuerda con otros estudios reportados, tales como Alvarez-Parrilla *et al.* (2011), quienes en Chile Jalapeño fresco y encontraron entre 740 y 3197 µg capsaicinoides g<sup>-1</sup> peso seco. Arrowsmith *et al.* (2012), concluyeron que la concentración de capsaicina en frutos de Chile Jalapeño no es afectada por la aplicación de soluciones de NaCl a diferentes porcentajes.

## CONCLUSIONES

Los consorcios de HMA aislados de las plantas nativas del Desierto Chihuahuense tuvieron un efecto diferencial en el desarrollo y rendimiento de las plantas de Chile. Mientras que las plantas inoculadas con HMA1 tuvieron un menor número de frutos por planta con respecto al testigo, el

peso fresco total de los frutos por planta no se vio afectado, lo que indica que los rendimientos totales no se vieron afectados por la inoculación con HMA. Los frutos de las plantas de Chile inoculadas con el consorcio HMA2 mostraron la mayor concentración de P en la primera cosecha a pesar de la reducción en P exógeno aplicado, lo que demuestra el incremento en la capacidad de captación de P proporcionado por los HMA.

La salinidad tuvo un efecto negativo sobre el número de hojas, área foliar, altura, diámetro del tallo, peso fresco y peso seco, y verdor de las plantas. En general, a mayor salinidad mayor afectación de las plantas. En cuanto a los frutos, el incremento en la salinidad del agua de riego modificó significativamente el contenido de fitoquímicos y disminuyó la concentración de ácido ascórbico en éstos, pero incrementó la concentración de fenoles totales.

## BIBLIOGRAFÍA

- Alvarez-Parrilla E., L. A. de La Rosa, R. Amarowicz and F. Shahidi (2011) Antioxidant activity of fresh and processed Jalapeño and Serrano peppers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59:163-173.
- Arrowsmith S., T. Egan, J. F. Meekins, D. Powers and M. Metcalfe (2012) Effects of salt stress on capsaicin content, growth and fluorescence in a Jalapeño cultivar of *Capsicum annuum* (Solanaceae). *Bios* 83:1-7.
- Azuma R., N. Ito, N. Nakayama, R. Suwa, N. Nguyen, J. A. Larrinaga-Mayoral, M. Esaka, H. Fujiyama and H. Saneoka (2010) Fruits are more sensitive to salinity than leaves and stems in pepper plants (*Capsicum annuum* L.). *Scientia Horticulturae* 125:171-178.
- Beltrano J., M. Ruscelli, M. C. Arango and M. Ronco (2013) Effects of arbuscular mycorrhiza inoculation on plant growth, biological and physiological parameters and mineral nutrition in pepper grown under different salinity and P levels. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 13:123-141.
- Covacevich F., H. Echeverría y L. Aguirrezabal (2001) Comparación de dos técnicas de cuantificación de infección micorrizica. *Ciencia del Suelo* 19:155-158.
- Davies Jr. F. T., V. Olalde-Portugal, M. J. Alvarado, H. M. Escamilla, R. C. Ferreira-Cerrato and J. I. Espinosa (2000) Alleviating phosphorus stress of Chile ancho pepper (*Capsicum annuum* L. 'San Luis') by arbuscular mycorrhizal inoculation. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 75:655-661.
- Díaz F. A., M. Alvarado C., F. Ortiz C. y O. Grageda C. (2013) Nutrición de la planta y calidad de fruto de pimiento asociado con micorriza arbuscular en invernadero. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 4:315-321.
- Gerdemann J. W. and T. H. Nicolson (1963) Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society* 46:235-244.
- González-Aguilar G., R. M. Robles-Sánchez, M. A. Martínez-Téllez, G. I. Olivas, E. Álvarez-Parrilla and L. A. de la Rosa (2008) Bioactive compounds in fruits: health benefits and effect of storage conditions. *Stewart Postharvest Review* 4:1-10.
- Jackson M. L. (1982) Determinaciones de fósforo en los suelos. In: Análisis Químico de Suelos. Editorial Omega. Barcelona, España. pp:190-253.
- Kaya C., M. Ashraf, O. Sonmez, S. Aydemir, A. Levent T. and M. Ali Cullu (2009) The influence of arbuscular mycorrhizal colonisation on key growth parameters and fruit yield of pepper plants grown at high salinity. *Scientia Horticulturae* 121:1-6.
- Khan M. H., M. K. Meghvansi, R. Gupta, V. Veer, L. Singh and M. C. Kalita (2014) Foliar spray with Vermiwash modifies the arbuscular mycorrhizal dependency and nutrient stoichiometry of Bhut Jolokia (*Capsicum assamicum*). *PLoS ONE* 9:e92318.



- Kumar A., J. F. Dames, A. Gupta, S. Sharma, J. A. Gilbert and P. Ahmad (2015) Current developments in arbuscular mycorrhizal fungi research and its role in salinity stress alleviation: a biotechnological perspective. *Critical Reviews in Biotechnology* 35:461-474.
- Niu G., D. S. Rodríguez, E. Call, P. W. Bosland, A. Ulery and E. Acosta (2010) Responses of eight chile peppers to saline water irrigation. *Scientia Horticulturae* 126:215-222.
- Niu G., P. Osuna, Y. Sun and S. Rodríguez (2012) Seedling emergence, growth, and mineral nutrition of ornamental chile peppers irrigated with saline water. *HortScience* 47:1653-1657.
- Oboh G. and J. B. T. Rocha (2007) Polyphenols in red pepper [*Capsicum annuum* var. aviculare (Tepin) and their protective effect on some pro-oxidants induced lipid peroxidation in brain and liver. *European Food Research and Technology* 225:239-247.
- Ozgonen H., N. Yardimci and H. Culal Kilic (2009) Induction of Phenolic compounds and pathogenesis – related proteins by mycorrhizal fungal inoculations against *Phytophthora capsici* Leonian in Pepper. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 12:1181-1187.
- Phillips J. M. and D.S. Hayman (1970) Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society* 55:158-161.
- Ramakrishna A. and G. A. Ravishankar (2011) Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling & Behavior* 6:1720-1731.
- Selvakumar G. and P. Thamizhiniyan (2011) The effect of the arbuscular mycorrhizal (AM) fungus *Glomus intraradices* on the growth and yield of chilli (*Capsicum annuum* L.) under salinity stress. *World Applied Sciences Journal* 14:1209-1214.
- Sharif M. and N. Claassen (2011) Action mechanisms of arbuscular mycorrhizal Fungi in phosphorus uptake by *Capsicum annuum* L. *Pedosphere* 21:502-511.
- SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (2015) Anuario estadístico de producción agrícola. [http://infosiap.siap.gob.mx/aagricola\\_siap\\_gb/icultivo/index.jsp](http://infosiap.siap.gob.mx/aagricola_siap_gb/icultivo/index.jsp) (Marzo 2017).
- Smith S. E. and D. Read (2008) The symbionts forming arbuscular mycorrhizas. In: *Mycorrhizal Symbiosis*. Elsevier. Great Britain. pp:13-41.
- Subramanian K. S., P. Santhanakrishnan and P. Balasubramanian (2006) Responses of field grown tomato plants to arbuscular mycorrhizal fungal colonization under varying intensities of drought stress. *Scientia Horticulturae* 107:245-253.

