

Aislamiento e Identificación de Micorrizas Arbusculares (MA) Asociadas a la Rizósfera del chile piquín (*Capsicum annuum* var. *aviculare* L.)

A.A Sánchez-Sánchez¹, S.M. Salcedo-Martínez¹, R. Mendoza-Villarreal²,
J.M. Pinedo-Espinoza³, S. Moreno-Limón^{1*}

¹Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, ²Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro,

³Universidad Autónoma de Zacatecas

[*sergio.morenoim@uanl.edu.mx](mailto:sergio.morenoim@uanl.edu.mx)

RESUMEN:

En las últimas décadas, los niveles de producción agrícola, se mantienen debido al uso de fertilizantes químicos, los que representan desventajas principalmente por sus costos y por su alto impacto de contaminación en suelos y agua por exceso de nitritos y nitratos. Una alternativa al uso de estas tecnologías son los biofertilizantes generados a partir de bacterias y/o esporas de micorrizas arbusculares (MA). Se aislaron e identificaron mediante morfología comparada, especies de MA asociadas a la rizosfera de chile piquín (*Capsicum annuum* var. *aviculare* L.) de cuatro localidades de los estados de Coahuila y Zacatecas, México. Se promovió la proliferación de estos aislamientos de MA bajo condiciones de esterilidad. Los aislamientos se sembraron con sorgo por dos ciclos de 45 días cada uno. Al final del último ciclo se determinó el porcentaje de colonización de raíz y se contabilizaron el número de esporas por 100 gramos de muestra de suelo. Se obtuvieron un total de catorce aislamientos mono-específicos, integrando 7 especies de hongos micorrizicos: *Rizopogon intraradices*, *Glomus* sp., *Glomus mosseae*, *Glomus clarum*, *Gigaspora albida*, *Sclerocystis coremioides* y *Acaulospora* sp. La especie con mayor número de esporas fue *Rizopogon intraradices* con hasta 3,285 esporas, alcanzando también los más altos porcentajes de colonización.

Palabras clave: Chile piquín, *Capsicum annuum*, Micorriza arbusculares, MA., Micorrización, Esporas.

ABSTRACT:

In the last decades, the levels of crop production are maintained due to the use of chemical fertilizers, which represent disadvantages mainly due to their costs and their impact contaminating soils and water due to excess of nitrites and nitrates. An alternative to the use of these technologies are biofertilizers generated from bacteria and/or mycorrhizal spores (MA). AM species associated to the rhizosphere of chile piquín (*Capsicum annuum* var. *aviculare* L.) were isolated and identified by comparative morphology from four localities of the states of Coahuila and Zacatecas, México. The proliferation of these MA isolates under sterile conditions was promoted. The isolates were planted with sorghum for two cycles of 45 days each. At the end of the last cycle the percentage of root colonization was determined and the number of spores per 100 grams of soil sample was counted. A total of fourteen monospecific isolates were obtained, integrating seven species of mycorrhizal fungi: *Rizopogon intraradices*, *Glomus* sp., *Glomus mosseae*, *Glomus clarum*, *Gigaspora albida*, *Sclerocystis coremioides* and *Acaulospora* sp. The species with the highest number of spores was *Rizopogon intraradices* with 3,285 spores, reaching also the highest colonization rates.

Key words: Chile piquin, *Capsicum annuum*, Arbuscular mycorrhiza, MA., Mycorrhization, Spores.

INTRODUCCIÓN

En México como en otros países de Latinoamérica el chile piquín *Capsicum annuum*, var. *aviculare* (Dierb. D'Arcy & Eshbaugh) es uno de los frutos de mayor importancia cultural y comercial. Sin embargo, existen algunos aspectos importantes que limitan su establecimiento y producción, por lo que su aprovechamiento y comercialización se derivan principalmente de colectas de plantas silvestres, proceso que muy seguramente causa una presión sobre las poblaciones y genera sobreexplotación del fruto. Otro aspecto importante para la explotación de este producto es la dificultad para la germinación de su semilla lo cual es una característica fisiológica propia de esta especie.

La utilización de hongos formadores de micorrizas arbusculares debe ser considerada en el diseño de cualquier sistema de producción agrícola, pues además de ser estos microsimbiontes, componentes inseparables de los agroecosistemas, realizan diversas funciones en su asociación con las plantas, pues pueden constituir sustitutos biológicos de los fertilizantes minerales (Thompson 1991). Entonces el uso de estos hongos, permite que se incremente la adaptación y que la fertilización sea más eficiente, es por ello que en el caso de los cultivos se podría ahorrar cantidades importantes de fertilizantes minerales e igualmente lograr una absorción de los nutrientes disponibles en el suelo.

El uso de las MVA como biofertilizante es una excelente herramienta en la agricultura, ya que las plantas inoculadas incrementan significativamente su desarrollo y crecimiento, incrementan su tolerancia a sequías, eficientiza su establecimiento en suelos pobres en nutrientes, son resistentes a patógenos, y realizan biocontrol de enfermedades fitopatógenas. Cabe mencionar que la inoculación de MVA en plantas que se desean ingresar al campo deben ser aplicados en plántulas en condiciones de invernadero, viveros hortícolas, frutícolas, etc. para asegurar su éxito de inoculación y evitar competencia o infección con los microorganismos naturales del suelo (Alarcón y Ferrera, 2000).

Cardona *et al.* (2008) en su investigación sobre la ocurrencia sobre hongos formadores de MVA en *Capsicum sp.* en la Amazonia Colombiana, concluyeron que especies como *C. annuum*, *C. baccatum*, *C. chinense*, *C. frutescens*, y *C. pubescens* presentan gran afinidad por hongos MVA. Se identificó con mayor frecuencia en la rizósfera de *Capsicum* el género *Glomus sp.* mostrando así que el chile posee una alta micotroficidad, por lo que existe en gran potencial en los MVA como uso de biofertilizante útil en cultivo de *Capsicum sp.* a nivel comercial.

La colonización de *Capsicum annuum* L. por hongos MVA puede realizarse con especies como *Glomus macrocarpum*, *G. fasciculatum*, *G. albidum*, *G. deserticola*, *G. mosseae*, *G. intraradices*, *G. diaphanum*, *G. albidum* y *G. claroides*, *Gigaspora margarita*, *Acaulospora laevis*, y *Sclerocystis dusii* (Haas *et al.*, 1986; Sreeramulu y Bagyaraj, 1986; Krishnaraj y Sreenivasa, 1992, Davies *et al.*, 1993; Gaur *et al.*, 1998; Chamizo *et al.*, 1998).

Por lo anterior, es necesario desarrollar alternativas para contribuir al establecimiento del cultivo, por lo que en el presente estudio se aislaron e identificaron hongos formadores de Micorrizas Arbusculares (MA), asociadas a la rizosfera de *Capsicum annuum* var. *aviculare* L., así como promover su reproducción y determinar su eficiencia de colonización en plántulas de sorgo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo de suelo para el aislamiento de MA. Con el fin de realizar un sondeo de las mejores especies de micorriza que se puedan utilizar como biofertilizantes en el chile piquín (*Capsicum annuum* L.) se llevó a cabo un muestreo dirigido. Se tomaron 5 muestras de suelo en la rizósfera de plantas de chile piquín con características

fisiológicas sobresalientes (altura, número de ramas, número de hojas, número de frutos, grado de marchitez, turgencia, grado de pigmentación, entre otras). Se utilizó la técnica descrita por Aguirre *et al.* (2007), que consiste en tomar 1 kg de suelo a una profundidad entre 10 y 30 cm alrededor del área de goteo. Las muestras obtenidas se almacenaron en bolsas de plástico para su transporte y se etiquetaron debidamente. Una vez en el laboratorio, la muestras se refrigeraron a 4°C para su conservación.

Procesamiento de las muestras de MA. Para la extracción de esporas de MA del suelo se utilizó la técnica de decanto húmedo y tamizado propuesta por Gerdemann y Nicolson (1963), que consistió en tomar 200 g de cada muestra y diluirlo en 500 mL de agua. La muestra se dejó reposar durante 10 minutos, con el propósito de que los sólidos se asienten. Posteriormente, el sobrenadante se decantó por tamices de tamaño de poro 20, 60 y 400 micras, para al final recuperar 40 mL de los últimos dos tamices.

Identificación de MA. Para la identificación de MA se observaron alícuotas de 5 mL (hasta completar 40 mL) bajo el microscopio estereoscópico, en los cuales se observaron esporas de distintas especies de hongos MVA. La identificación se llevó a cabo utilizando las claves taxonómicas proporcionadas por el International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi (INVAM).

Aislamiento y reproducción de MA. Una vez identificadas las esporas de distintas especies, se realizaron aislamientos monospóricos mediante la modificación a la técnica propuesta por Román *et al.* (2001). Cada aislamiento consistió en utilizar macetas de unicel de 1 litro con mezcla de tierra arena 1:1 previamente esterilizada. Las esporas después de haber sido identificadas en el estereoscopio se tomaron con la ayuda de un capilar y se depositaron individualmente en cada una de las macetas. En maceta se sembraron 10 semillas de sorgo con el fin de reproducir la espора ahí presente, esto constituyó un aislamiento. El número de esporas de cada aislamiento se contabilizó a los 15 y 30 días mediante la técnica de Gerdemann y Nicolson (1963).

Conteo de esporas y porcentaje de colonización de MA en raíces de sorgo. Para evaluar el número de esporas de hongos micorrícicos por gramo de suelo húmedo (gsh^{-1}) se realizó un análisis descriptivo, mientras que para evaluar el porcentaje de colonización micorrízica se consideraron los segmentos colonizados y los no colonizados. Se obtuvo la relación del total de segmentos colonizados con respecto a los totales evaluados, además, se contabilizó con base a colonización total por arbusculos y/o por vesículas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Géneros de hongos micorrícicos arbusculares (MA) encontrados por localidad. Se identificaron un total de 7 especies de hongos micorrícicos (MA) en 14 aislamientos realizados en las muestras de suelo colectadas en la rizosfera de plantas silvestres de chile piquín, de cuatro localidades ubicadas en los estados de Coahuila y Zacatecas. Las especies encontradas son: *Rizophagus intraradices*, *Glomus sp.*, *Golum mosseae*, *Glomus clarum*, *Gigaspora albida*, *Sclerocystis coremioides* y *Acaulospora sp.* La mayor diversidad de especies (Tabla I) se encontró en las muestras de suelo de la localidad Río Tuxpan en Zacatecas, México en la cual se registraron seis de las 7 especies, por el contrario la menos diversidad de presente en la localidad Muzquiz del estado de Coahuila con únicamente 2 especies. Estos resultados muestran que la diversidad y número de especies está influenciado directamente por los factores bióticos y que interactúan en un ecosistema determinado, especialmente en los sistemas agroforestales, además puede evidenciarse su presencia y efecto benéfico en el desarrollo de las plantas puesto que las plantas de chile piquín desarrolladas en esta localidad mostraron los mejores atributos fisiológicos.

Tabla I. Géneros y especies encontradas en la rizosfera de chile piquín (*Capsicum annuum* var *aviculare* L.) en cada una de las localidades muestreadas.

| Localidades | | | |
|---------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| Zacatecas | | Coahuila | |
| Rio Tuxpan | Tuxpan ¹ | Muzquiz | La muralla |
| <i>Rizophagus intraradices</i> | <i>Rizophagus intraradices</i> | <i>Rizophagus intraradices</i> | <i>Rizophagus intraradices</i> |
| <i>Glomus sp.</i> | <i>Glomus mosseae</i> | <i>Glomus mosseae</i> | <i>Glomus mosseae</i> |
| <i>Glomus mosseae</i> | <i>Sclerocystis coremioides</i> | | <i>Glomus clarum</i> |
| <i>Gigaspora albida</i> | | | |
| <i>Sclerocystis coremioides</i> | | | |
| <i>Acaulospora sp</i> | | | |

Población de esporas de hongos formadores de micorriza arbuscular (MA). En promedio (Figura 1), las especies que presentaron una mayor concentración de esporas por cada 100 gramos de suelo fueron *Rizophagus intraradices* y *Glomus mosseae* con 3,285 y 3,013 esporas respectivamente. Por otra parte para *Acaulospora sp* y *Sclerocystis coremioides* los cuerpos fructíferos encontrados ascendieron a 460 y 450 respectivamente. La densidad fúngica de MA encontrada, supera un poco a lo encontrado por Bolaños *et al.* (2000), quienes identificaron micorrizas arbusculares en suelos de la zona cafetera colombiana, y encontraron un promedio de 2500 esporas por cada 100 g de suelo. De igual están más por arriba de los obtenidos por Cardona *et al.* (2005), quienes investigaron la abundancia de actinomicetos y micorrizas arbusculares en paisajes fragmentados de la amazonía colombiana, hallaron promedios de 1509 esporas por cada 100 g de suelo. Por otro lado, León (2006) evaluó y caracterizó micorrizas arbusculares asociadas a yuca (*Manihot sculenta*) y encontró resultados más altos a los reportados en esta estudio, con un promedio de 8710 esporas por cada 100 g de suelo. Esto muestra que el número de estas puede estar influenciado directamente por los factores bióticos y abióticos que interactúan en un ecosistema determinado, especialmente en los sistemas agroforestales.

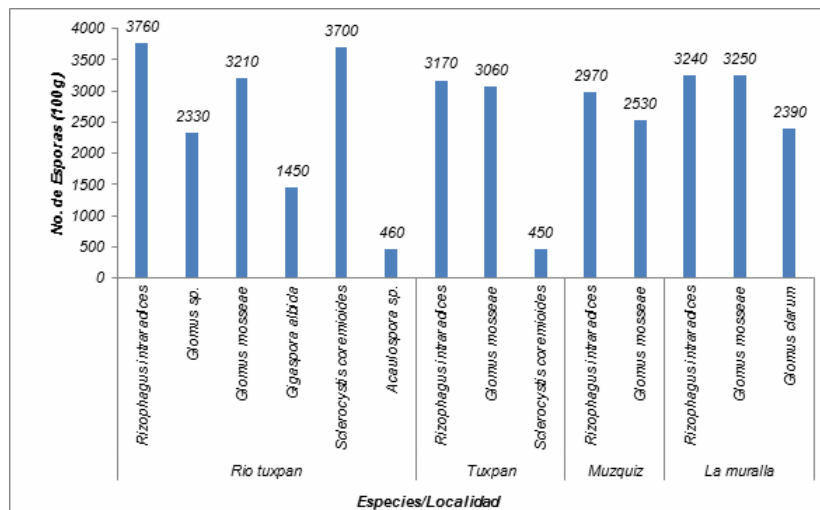


Figura 1. Valores promedio del número de esporas por especie de hongo micorrizico arbuscular en la rizosfera de chile piquín (*Capsicum annuum* var *aviculare* L.) en cada una de las localidades.

Porcentaje de colonización micorrízica. De acuerdo a los valores de densidad de colonización visual (Figura 2) obtenidos en las raíces de sorgo donde se realizó la reproducción de esporas de cada una de las especies micorrizicas se encontró que el mayor porcentaje se presenta con *Rizophagus intraradices* alcanzando un 46.3 por ciento de invasión radicular, por el contrario la menor colonización se presentó con *Acaulospora sp*, especie muy

frecuente en especies leñosas. Estos resultados coinciden con los reportados por Morales y Durando (2008) quienes reportaron que en la época húmeda la frecuencia de micorrización fue superior al 50% y en época seca del 45%, lo que hace pensar que las condiciones climáticas poco influyen en la densidad de micorrización existente y más bien se puede atribuir a los componentes que tenga el suelo, por ejemplo la salinidad y la cantidad de fósforo (P), tal como menciona Tena (2002), quien evaluó las características físicas y químicas de suelos salinos y halló que estos factores afectan la presencia y diversidad de hongos micorrízicos en la rizósfera de las plantas y demostró que a mayor concentración de sal y de P en el suelo, existía menor densidad micorrízica y a menor concentración de sal y P en el suelo existía mayor penetración de los hongos en las plantas. Pese a que en la presente investigación no se realizó un análisis de salinidad ni de contenido de P en los suelos muestreados, se considera que los resultados obtenidos de acuerdo a los hallazgos previos pueden estar ligados a los factores antes mencionados.

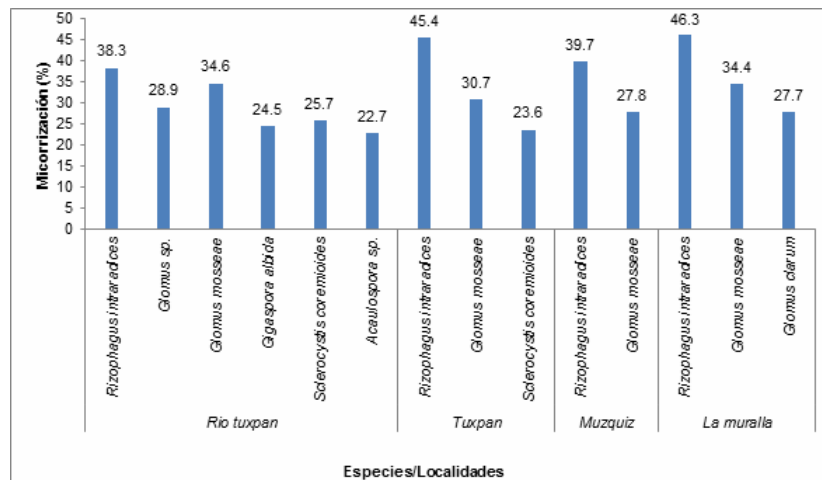


Figura 2. Porcentaje de colonización en raíces de sorgo por especies micorrizicas aisladas de la rizosfera de chile piquín (*Capsicum annuum* var. *aviculare* L.) en cada una de las localidades.

Por último es importante mencionar que la prevalencia del género *Glomus* y *Rizophagus* con un alto índice de número de esporas en todos los suelos muestreados, demuestra la facilidad que tienen los representantes de este género para colonizar raíces de diferentes especies vegetales. Además en nuestro país se conoce muy poco sobre estos microorganismos benéficos y la obtención de estos hongos micorrízicos asegura la producción de inóculos que servirán como biofertilizante para que las plantas obtengan mayor producción de biomasa, mayor crecimiento relativo, mayor supervivencia al trasplante y por ende esto sería beneficioso porque se tendría una disminución considerable de gastos en insumos agrícolas: fertilizantes, agua y pesticidas.

BIBLIOGRAFÍA

- Aguirre JF., Irizar MB., Grajeda OA., Peña MA., Loredó C. y Gutiérrez A. 2009. Los biofertilizantes microbianos: alternativa para la agricultura en México. Folleto Técnico Núm. 5 Tuxtla Chico, Chiapas. Marzo 2009. Instituto Nacional de Investigaciones, Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional Pacífico Sur Campo Experimental Rosario Izapa.
- Alarcón A. y Ferrera R. 2000. Biofertilizantes: importancia y utilización en la agricultura. Agricultura Técnica en México. 26 (julio-diciembre). 191-203
- Bolaños, M; Rivillas, C; Suárez, S. 2000. Identificación de micorrizas arbusculares en suelos de la zona cafetera Colombiana. CENICAFE 51(4):245-264.

Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos

- Cardona, G; Arcos, A; Murcia, U. 2005. Abundancia de actinomicetos y micorrizas arbusculares en paisajes fragmentados de la Amazonía colombiana. Colciencias. Bogotá, Colombia. 128 p.
- Cardona G., Peña C. y Arcos A. 2008. Ocurrencia de hongos formadores de micorriza arbuscular asociados a ají (*Capsicum* sp.) en la Amazonia colombiana. *Agronomía Colombiana*, 26:(3), 459-470.
- Chamizo A., Ferrera R. y Varela L. 1998. Identificación de especies de un Consorcio del género *Glomus*. *Revista Mexicana Micología* 14: 37-40.
- Davies F., Potter J. y Linderman R. 1993. Drought resistance of mycorrhizal pepper plants independent of leaf P concentration-response on gas exchange and water relations. *Physiol. Plant* 87: 45-53.
- Gaur A., Adholeya A. y Mukerji K. 1998. A comparison of AM fungi inoculants using *Capsicum* and *Polyantesis* marginal soil amended with organic matter. *Mycorrhiza* 7:307-312.
- Gerderman, J; Nicholson, T. 1963. Spores of mycorrhizal endogene species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society* 46:235-244.
- Hass J., Bar Y. y Krijun J. 1986. Nutrient availability effects in vesicular-arbuscular mycorrhizal bell pepper (*Capsicum annuum*) seedlings and transplants, *Ann. Appl. Biol.*, 108:171-179.
- Krishnaraj P. y Sreenivasa M. 1992. Increased root colonization by bacteria due to inoculation of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus in chilli (*Capsicum annuum*). *Zentralblatt für Mikrobiologie* 147:131-133.
- Morales, R; Durango, W. 2008. Resultados en la obtención de inóculos nativos de hongos micorrízicos en cultivos de cacao (*Theobroma cacao*) y soya (*Glycine max*). In XI Congreso Ecuatoriano de la Ciencia del Suelo. Quito, Ecuador. p. 1-9.
- Roman F., J. Farias, P. Yahuaca (2001) Influencia en la Colonización Micorrízica en Diferentes Etapas del Crecimiento y Desarrollo de Plantas de Chile (*Capsicum annuum* L.). *Memorias: 5as Jornadas de Investigación, Universidad Autónoma de Zacatecas*, pp. 1-15.
- Sreeramulu K. y Bagyaraj D. 1986. Field response of chilli to VA mycorrhiza on black clayey soil. *Plant Soil*. 299-302.
- Tena, A. 2002. Presencia de hongos micorrízicos arbusculares en plantas silvestres de suelos salinos en el estado de Colima. Tesis M.Sc. Universidad de Colima. Colima, Colombia. 124 p.
- Thompson, J. 1991. Vesicular-arbuscular mycorrhizae as modifiers of soil fertility. In Stewart, BA. *Advances in soil sciences*. Springer-Verlag, New York. p. 1-40.