

EFFECTIVIDAD DE INOCULANTES MICROBIANOS EN EL CRECIMIENTO Y PRODUCTIVIDAD DE CHILE HABANERO (*Capsicum chinense* Jacq.)

EFFECTIVENESS OF MICROBIAL INOCULANTS ON GROWTH AND PRODUCTIVITY OF HABANERO PEPPER (*Capsicum chinense* Jacq.)

Arturo Reyes-Ramírez¹, Mauricio López-Arcos¹, Esaú Ruiz-Sánchez^{1*}, Luis Latournerie-Moreno¹, Alfonso Pérez-Gutiérrez¹, Mónica G. Lozano-Contreras², Manuel J. Zavala-León²

¹Instituto Tecnológico de Conkal. Km 16.3, Antigua carretera Mérida-Motul. 97345. Conkal, Yucatán, México. ²Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias-CIR-SE. Campo Experimental Mocochoá Km 25.5 Antigua carretera Mérida-Motul. 97454. Mocochoá, Yucatán, México. (esau_ruiz@hotmail.com).

RESUMEN

El uso de inoculantes microbianos es una alternativa viable para nutrir los cultivos e incrementar su productividad sin deteriorar el suelo. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de inoculantes microbianos en el crecimiento y productividad de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) en invernadero. El estudio se realizó en Conkal, Yucatán, México, de septiembre a diciembre de 2012. Tres inoculantes y un testigo (sin aplicación de inoculante) fueron evaluados y con fertilización química comercial. El diseño experimental fue completamente al azar y los tratamientos fueron *Rhizobagis irregularis* (1 espora mL⁻¹), *Pseudomonas* spp. (1×10⁶ ufc mL⁻¹) y *Azospirillum brasilense* (1×10⁶ ufc mL⁻¹). El ANDEVA y la comparación de medias de Tukey (p≤0.05) se realizaron con SAS. La aplicación de los inoculantes se realizó durante el trasplante y las variables de respuesta fueron el crecimiento, la productividad y el contenido nutrimental (N, P, K) del follaje. Las plantas tratadas con *Pseudomonas* spp. tuvieron significativamente mayor altura, diámetro de tallo y biomasa seca total que las plantas testigo 120 d después del trasplante. En este mismo tratamiento el rendimiento fue mayor (899.84 g por planta) y los frutos tuvieron longitud, diámetro y peso mayor. El contenido mineral del follaje no fue diferente (p>0.05) entre las plantas tratadas con los inoculantes y el testigo. La inoculación de *Pseudomonas* spp. a chile habanero en el trasplante aumenta el crecimiento, rendimiento y tamaño de fruto.

Palabras clave: *Capsicum chinense*, inoculantes microbianos, *Pseudomonas* spp., fertilización.

ABSTRACT

The use of microbial inoculants is a viable alternative to nurture crops and increase productivity without damaging the soil. The objective of this study was to evaluate the effect of microbial inoculants on growth and productivity of habanero pepper (*Capsicum chinense* Jacq.) in a greenhouse conditions. The study was conducted in Conkal, Yucatan, Mexico, from September to December 2012. Three inoculants and a control (without application of inoculant) were evaluated under commercial chemical fertilizer. A completely randomized design was used and treatments were *Rhizobagis irregularis* (one spore mL⁻¹), *Pseudomonas* spp. (1×10⁶ cfu mL⁻¹) and *Azospirillum brasilense* (1×10⁶ cfu mL⁻¹). ANOVA and Tukey's comparison of means (p≤0.05) were performed using SAS. The application of inoculants was performed during transplantation and response variables were growth, productivity and foliage nutrient content (N, P, K). The plants treated with *Pseudomonas* spp. were significantly higher, and showed greater stem diameter and total dry biomass than the control plants 120 d after transplanting. In this same treatment the highest yield (899.84 g per plant) was obtained and fruits were larger, with greater diameter and weight. The mineral content of leaves was not different (p>0.05) between the plants treated with inoculants and those of the control. Inoculation of *Pseudomonas* spp. to habanero pepper during transplantation enhances growth, yield and fruit size.

Key words: *Capsicum chinense*, microbial inoculants, *Pseudomonas* spp., fertilization.

INTRODUCTION

The cultivation of habanero pepper (*Capsicum chinense* Jacq.) is part of the regional identity in some areas of Mexico such as

*Autor responsable ❖ Author for correspondence.

Recibido: marzo, 2013. Aprobado: abril, 2014.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 48: 285-294. 2014.

INTRODUCCIÓN

El cultivo de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) es parte de la identidad regional en algunas zonas de México, como la península de Yucatán. En esta región, el chile habanero es uno de los principales productos agrícolas de importancia económica, y se consume fresco y procesado en salsas y curtidos (Soria *et al.*, 2002). La superficie de siembra de este cultivo ha aumentado para cubrir la demanda regional e internacional, y otros estados del sureste de México han abierto nuevas áreas al cultivo de esta solanácea (Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP, 2011).

El cultivo de especies hortícolas enfrenta limitantes que minimizan su potencial de rendimiento y utilidad. La nutrición de las plantas es preponderante porque el mal uso de los fertilizantes químicos puede tener un costo económico alto, además de causar efectos adversos al suelo y agua (Zhang *et al.*, 1996). Una alternativa ecológicamente aceptable para aumentar el rendimiento de cultivos es la inoculación de microorganismos promotores del crecimiento, denominados bioestimulantes o biofertilizantes (Compant *et al.*, 2010; Parmar y Dufresne, 2011). Estos microorganismos pueden mejorar la fertilidad del suelo mediante la solubilización y mineralización de nutrientes P y K mediante ácidos orgánicos como el glicólico, oxálico, malónico y succínico. También pueden utilizar el N atmosférico y fijarlo para disponibilidad de las plantas (Nadeem *et al.*, 2013), o pueden mejorar el crecimiento vegetal mediante la síntesis y exportación de reguladores de crecimiento como las auxinas, giberelinas, citoquininas, etileno y ácido abscísico (Compant *et al.*, 2010). Los microorganismos como inoculantes microbianos son las bacterias de los géneros *Azospirillum*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azotobacter*, *Anabaena*, *Frankia*, *Bacillus* y *Pseudomonas*, y los hongos *Glomus* spp. y *Trichoderma* spp. (Lugtenberg y Kamilova, 2009). Canto-Martin *et al.* (2004) obtuvieron más biomasa seca aérea y de raíz en *C. chinense* inoculadas con *Azospirillum brasilense*, así como mayor número de raíces secundarias y terciarias. Según Constantino *et al.* (2008), el crecimiento vegetativo de las plantas y el rendimiento de los frutos fueron mayores en *C. chinense* inoculadas con *A. brasilense*,

the Yucatan peninsula. In this region, the habanero pepper is one of the main agricultural products of economic importance, and is consumed fresh and processed in sauces and tanned (Soria *et al.*, 2002). The sowing area of this crop has increased to cover the regional and international demand, and other southeastern states of Mexico have opened up new areas for the cultivation of this Solanaceae plant (Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP, 2011).

Cultivation of horticultural species faces limitations that minimize their potential performance and utility. The plant nutrition has an important place because the misuse of chemical fertilizers can have a high economic cost, in addition to causing adverse effects to soil and water (Zhang *et al.*, 1996). An environmentally acceptable alternative to increase crop yields is the inoculation of promoting microorganisms of growth, also called bio-stimulants or bio-fertilizers (Compant *et al.*, 2010; Parmar and Dufresne, 2011). These microorganisms can improve soil fertility through the solubilization and mineralization of P and K using organic acids such as glycolic, oxalic, malonic and succinic acids. They can also use atmospheric N and fix it for plant availability (Nadeem *et al.*, 2013), or may enhance plant growth through the synthesis and export of plant growth regulators such as auxins, gibberellins, cytokinins, ethylene and abscisic acid (Compant *et al.*, 2010). Microorganisms as microbial inoculants are bacteria of the genera *Azospirillum*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azotobacter*, *Anabaena*, *Frankia*, *Bacillus* and *Pseudomonas*, and fungi *Glomus* spp. and *Trichoderma* spp. (Lugtenberg and Kamilova, 2009). Canto-Martin *et al.* (2004) obtained more aerial and root dry biomass in *C. chinense* inoculated with *Azospirillum brasilense* and greater number of secondary and tertiary roots. According to Constantino *et al.* (2008), vegetative plant growth and yield of fruits were higher in *C. chinense* inoculated with *A. brasilense*, *Azotobacter chroococum* and *Glomus* spp. than in uninoculated plants. Therefore, the objective of this study was to evaluate the effect of three microbial inoculants on growth and yield of *C. chinense* in a greenhouse in Conkal, state of Yucatan, Mexico.

Azotobacter chroococum y *Rhizophagus* spp. que en plantas sin inocular. Por tanto, el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de tres inoculantes microbianos en el crecimiento y rendimiento de *C. chinense* en invernadero en Conkal, estado de Yucatán, México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del área experimental

La investigación se realizó en un invernadero tipo capilla en el Área de Investigación del Instituto Tecnológico de Conkal, Yucatán, en el km 16.3 de la antigua carretera Mérida-Motul, al noreste de Mérida a 21° 04' N y 89° 31' O, a una altitud de 8 m. El clima predominante es Awo (Xo) (i) g (Mardero *et al.*, 2012).

Preparación del sustrato y de la parcela

El cultivar criollo de chile habanero H224 fue utilizado en el estudio. Las plántulas se establecieron en bolsas con capacidad de 10 kg; en el fondo de ellas se colocaron 2 kg de grava y 6 kg de una mezcla de tierra negra y bagazo de henequén, en proporción 2:1. Las características químicas del sustrato fueron: pH 5.5, N total 0.019 %, P total 3.28 g kg⁻¹ y K total 3.94 g kg⁻¹. Después se instaló el sistema de riego con cinta de goteo calibre 8000, con goteros cada 30 cm y gasto nominal de 1 L h⁻¹. Luego, el sustrato se desinfectó con peróxido de hidrógeno al 5 % diluido en el agua de riego, para evitar microorganismos fitopatógenos; el peróxido de hidrógeno es un desinfectante usado contra hongos y bacterias patógenas en ambientes domésticos y médicos (Ikai *et al.*, 2010), de fácil adquisición y no representa un riesgo alto para el aplicador. El sustrato desinfectado se dejó en reposo 48 h y se realizó el trasplante. La plantación se estableció con distancia de 1.60 m entre surcos y 0.30 m entre plantas.

A los 50 d después del trasplante (ddt) se realizó el tutorado de las plantas. La fertilización (125 N-100 P-150 K) recomendada por Soria *et al.* (2002) se aplicó cada 2 d con el agua de riego: 1) etapa de crecimiento vegetativo, 63 % N, 33 % P y 33 % K; 2) etapa de floración y amarre de frutos 25 % N, 50 % P y 22 % K; 3) etapa de fructificación, 12 % N, 17 % P y 45 % K. También se realizaron dos aplicaciones de calcio foliar (Poliquel calcio[®], 2 mL L⁻¹ de agua). El control de araña roja (*Tetranychus* sp.) se realizó con dos aplicaciones de Amitraz (Amitac*20 CE[®]) y una de Dicofol (AK-20[®]), ambas a dosis de 2 mL L⁻¹ de agua. El control de mosquita blanca (*Bemisia tabaci*) se realizó con una aplicación de Imidacloprid (Confidor[®], 1.5 mL L⁻¹ de agua). Durante la cosecha se realizaron cuatro aplicaciones de Maxigrow[®] (1.5 mL L⁻¹ de agua).

MATERIALS AND METHODS

Location of the experimental area

The research was conducted in a chapel-type greenhouse in the Área de Investigación at the Instituto Tecnológico de Conkal, Yucatán, located at km 16.3 of ancient Motul Mérida-road, northeast of Mérida at 21° 04' N and 89° 31' W, with an altitude of 8 m. The predominant climate is Awo (Xo) (i) g (Mardero *et al.*, 2012).

Preparation of the substrate and plot

The native cultivar of habanero pepper H224 was used in the study. Seedlings were established in bags with capacity of 10 kg; 2 kg of gravel were placed in the bottom of them and 6 kg of a mixture of black soil and sisal pulp, in a 2:1 ratio. The chemical characteristics of the substrate were: pH 5.5, total N 0.019 %, total P 3.28 g kg⁻¹ and total K 3.94 g kg⁻¹. After filling the bags the irrigation system was installed with drip tape 8000 gauge, with emitters every 30 cm and nominal spending 1 L h⁻¹. Then, the substrate was disinfected with hydrogen peroxide 5 % diluted in irrigation water, to avoid phytopathogenic microorganisms of the substrate; hydrogen peroxide is a disinfectant used against pathogenic bacteria and fungi in home and medical environments (Ikai *et al.*, 2010), it is readily available and does not represent a high risk to the applicator. The disinfected substrate was allowed to stand 48 h and then the transplantation was carried out. Planting distance was established with 1.60 m between rows and 0.30 m between plants.

At 50 d after transplanting (dat) supporting of plants was performed. Fertilization (125 N-100 P-150 K) recommended by Soria *et al.* (2002) was applied every 2 d with irrigation water: 1) vegetative growth stage, 63 % N, 33 % P and 33 % K; 2) flowering and fruit set, 25 % N, 50 % P and 22 % K; 3) fruiting stage, 12 % N, 17 % P and 45 % K. Two applications of foliar calcium (Poliquel calcio[®], 2 mL L⁻¹ of water) were also performed. The control of spider mite (*Tetranychus* sp.) was performed with two applications of Amitraz (Amitac*20 CE[®]) and one of Dicofol (AK-20[®]) both at dose of 2 mL L⁻¹ of water. Control of whitefly (*Bemisia tabaci*) was performed with an application of Imidacloprid (Confidor[®], 1.5 mL L⁻¹ of water). During harvesting four applications of Maxigrow[®] were performed (1.5 mL L⁻¹ of water).

Treatments

Treatments were: 1) mycorrhiza INIFAPTM (*Rhizophagus irregularis*), provided by Dr. Oscar Cabrera Grageda of INIFAP-Bajío; 2) bacteria 2709 INIFAPTM (*Pseudomonas* spp),

Tratamientos

Los tratamientos fueron: 1) micorriza INIFAP^{MR} (*Rhizophagus irregularis*), proporcionado por el Dr. Oscar Grageda Cabrera del INIFAP-Bajío; 2) bacterias 2709 INIFAP^{MR} (*Pseudomonas* spp.), consorcio de bacterias comercializadas por INIFAP; 3) *Azospirillum brasilense* (recolecta particular del INIFAP), proporcionado por el Dr. Gerardo Armando Aguado Santacruz del INIFAP-Bajío; 4) testigo, (Cuadro 1). Estos inoculantes se usan en tomate, cebada, sorgo, arroz y maíz, con efectos positivos al menos en alguna de las siguientes variables: biomasa aérea, biomasa de raíz, rendimiento de fruto (Diaz-Franco *et al.*, 2013 y 2014; Lozano-Contreras *et al.*, 2013; Orona Castro *et al.*, 2013; Alvarado-Carrillo *et al.*, 2014). Los inoculantes estaban en forma sólida, se diluyeron en agua corriente en contenedores plásticos (20 L de capacidad) y 100 mL de la suspensión microbiana, en la concentración respectiva, se aplicaron en el cuello de cada plántula durante el trasplante (Cuadro 1).

Variables de respuesta

El crecimiento de las plantas se evaluó con: 1) altura de la planta medida cada 30 d con un flexómetro desde la base del tallo hasta el ápice terminal; 2) diámetro del tallo medido cada 30 d con un vernier digital colocado a 3 cm de la superficie del suelo; 3) biomasa seca medida a 60 y 120 ddt. Los órganos de las plantas se separaron y depositaron en bolsas de papel, se secaron 3 d en una estufa a 65 °C y se pesaron en una balanza analítica (Ohaus[®]).

Las variables para los componentes del rendimiento fueron: 1) longitud y diámetro ecuatorial de fruto medidos con un vernier digital en 100 frutos elegidos al azar encada una de las ocho plantas de la parcela útil; 2) peso de los frutos medido con una balanza analítica (Ohaus[®]), y se usaron los mismos frutos en los cuales se evaluó longitud y diámetro; 3) rendimiento, obtenido con el peso de los frutos frescos de cuatro cortes en cada una de las ocho plantas de la parcela útil.

a consortium of bacteria marketed by INIFAP; 3) *Azospirillum brasilense* (particular collection of INIFAP) provided by Dr. Gerardo Armando Aguado Santacruz of INIFAP-Bajío; 4) Control (Table 1). These inoculants are used in tomato, barley, sorghum, rice and corn, with positive effects on some of the following variables: aerial biomass, root biomass, fruit yield (Diaz-Franco *et al.*, 2013 and 2014; Lozano-Contreras *et al.*, 2013; Orona Castro *et al.*, 2013; Alvarado-Carrillo *et al.*, 2014). Inoculants were in solid form, they were diluted in tap water in plastic containers (20 L of capacity) and 100 mL of the microbial suspension in its respective concentration, were applied on the neck of each seedling during transplantation (Table 1).

Response variables

The plant growth was evaluated by: 1) height plant measured every 30 d with a tape measure from the base of the stem to the terminal apex; 2) stem diameter measured every 30 d with a digital vernier placed at 3 cm from the soil surface; 3) dry biomass measured at 60 and 120 dat. The plant organs were separated and placed in paper bags, dried 3 d in an oven at 65 °C and weighed on an analytical balance (Ohaus[®]).

Variables for yield components were: 1) length and equatorial diameter of fruit measured with a digital vernier in 100 fruits randomly selected in each of eight plants of the useful plot; 2) weight of fruit measured with an analytical balance (Ohaus[®]), using the same fruits in which length and diameter were evaluated; 3) yield, obtained with the weight of fresh fruits from four cuts in each of the eight plants of useful plot.

Foliar content of N, P and K was determined 120 dat in composite samples of foliage total of four plants of each useful plot; samples were kept in sealed bags until analysis according to Alcantar-Gonzalez and Sandoval-Villa (1999). The determination of N was carried out with the modified Kjeldahl method, of P by spectrophotometry of UV-visible light with the method which

Cuadro 1. Inoculantes microbianos evaluados en el crecimiento y producción de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) criollo H224.

Table 1. Microbial inoculants evaluated in the growth and production of habanero pepper criollo H224 (*Capsicum chinense* Jacq.).

Tratamiento	Producto microbiano	Ingrediente activo	Dosis
1	Micorriza INIFAP ^{MR}	<i>Rhizophagus irregularis</i>	1 espora mL ⁻¹
2	Bacteriano 2709 INIFAP ^{MR}	<i>Pseudomonas</i> spp.	1 × 10 ⁶ ufc mL ⁻¹
3	Producto experimental INIFAP	<i>Azospirillum brasilense</i>	1 × 10 ⁶ ufc mL ⁻¹
4	Testigo	Sin inoculante	-

El contenido foliar de N, P y K se determinó 120 ddt en muestras compuestas del follaje total de cuatro plantas de cada parcela útil; las muestras se mantuvieron en bolsaron selladas hasta su análisis de acuerdo con Alcántar-González y Sandoval-Villa (1999). La determinación del N fue con el método Kjeldahl modificado, la del P por espectrofotometría de luz UV-visible con el procedimiento que incluye molibdato de sodio con p-metilaminofenol sulfato, y la del K por espectrofotometría de absorción atómica con el procedimiento digestión ácida.

Diseño experimental y análisis de datos

El diseño experimental fue completamente al azar con cuatro tratamientos, cinco repeticiones por tratamiento y 16 plantas por cada repetición. Para las evaluaciones de biomasa y rendimiento por planta se usaron ocho plantas de la parcela útil, y para las variables de los frutos se tomaron 100 frutos al azar del total de frutos de las mismas plantas. Para el contenido de los minerales del follaje se usaron cuatro repeticiones de cada tratamiento, y las repeticiones consistieron de dos plantas. Con los datos se realizó un ANDEVA y la prueba de comparación múltiple de medias (Tukey; $p \leq 0.05$) en SAS para Windows, versión 3.11.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Crecimiento de la planta

No hubo diferencias significativas en la altura de las plantas por efecto de los inoculantes 30 y 60 ddt, pero después de 90 d las inoculadas con *Pseudomonas* spp. tuvieron una altura de 89.17 cm significativamente mayor ($p \leq 0.05$) que la de las plantas inoculadas con *Azospirillum brasilense* y las del testigo. Además, a los 120 ddt las plantas inoculadas con *Pseudomonas* spp. fueron 8 cm más altas ($p \leq 0.05$) que las del testigo (Cuadro 2). Estos resultados coinciden con los de Kang *et al.* (2007), quienes reportan que las plantas de chile (*Capsicum annum* L.) inoculadas con *Pseudomonas* sp. fueron significativamente más altas que las del testigo sin inocular.

A los 30 y 60 ddt no hubo diferencias ($p > 0.05$) entre los tratamientos para diámetro del tallo, pero desde los 90 ddt el diámetro del tallo de las plantas inoculadas con *Pseudomonas* spp. fue mayor ($p \leq 0.05$) que el de las plantas del testigo y las inoculadas con *A. brasilense* (Cuadro 3). A los 120 ddt el diámetro de tallo en las plantas inoculadas con *Pseudomonas* spp. fue mayor ($p \leq 0.05$) sólo respecto a las inoculadas con *A. brasilense*. Al respecto, *Pseudomonas* spp. son promotoras eficientes del crecimiento en varios

includes sodium molybdate with p-methylaminophenol sulfate, and of K by spectrophotometry of atomic absorption with the acid digestion process.

Experimental design and analysis

The experimental design was completely randomized with four treatments, five replicates per treatment and 16 plants per replication. For evaluations of biomass and plant yield eight plants of useful plot were used, and for variables of fruit 100 fruits were randomly taken of total fruits of the same plants. For the mineral content of leaves four replications of each treatment were used, and the replications consisted of two plants. With the data an ANOVA and a test of multiple comparison of means (Tukey, $p \leq 0.05$) was performed using SAS for Windows, version 3.11.

RESULTS AND DISCUSSION

Plant growth

There were no significant differences were recorded in plant height by effect of inoculants at 30 and 60 dat, but after 90 dat those inoculated with *Pseudomonas* spp. had a height of 89.17 cm, which was significantly higher ($p \leq 0.05$) than the plants inoculated with *Azospirillum brasilense* and those of the control. Moreover, at 120 dat plants inoculated with *Pseudomonas* spp., were 8 cm higher ($p \leq 0.05$) than those of the control (Table 2). These results agree with those of Kang *et al.* (2007), who reported that pepper plants (*Capsicum annum* L.) inoculated with *Pseudomonas* sp. were significantly higher than those of the control without inoculation.

At 30 and 60 dat there were no differences ($p > 0.05$) between treatments for stem diameter, but from 90 dat stem diameter of the plants inoculated with *Pseudomonas* spp. was higher ($p \leq 0.05$) than those of the control plants and those inoculated with *A. brasilense* (Table 3). At 120 dat, stem diameter in plants inoculated with *Pseudomonas* spp. was higher ($p \leq 0.05$) only with respect to those inoculated with *A. brasilense*. In this regard, *Pseudomonas* spp. are efficient promoters of growth in various genotypes of chili due to its ability to efficiently colonize the roots of this cultivar, its effect are remarkable in plant height and diameter of stems, and other variables of the aboveground biomass (Lucas-García *et al.*, 2003.; Sharma *et al.*, 2007).

Cuadro 2. Efecto de inoculantes microbianos en la altura de las plantas de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) entre los 30 y 120 días después del transplante (ddt).**Table 2. Effect of microbial inoculants on height of habanero pepper (*Capsicum chinense* Jacq.) plants between 30 and 120 days after transplanting (dat).**

Inoculante	Altura (cm)			
	30 ddt	60 ddt	90 ddt	120 ddt
<i>Pseudomonas</i> spp.	29.27±1.35 a	61.52±1.50 a	89.17±1.65 a	110.20±1.94 a
<i>Rhizobagus irregularis</i>	28.12±1.03 a	61.27±1.77 a	85.52±1.95 ab	104.62±1.86 ab
<i>Azospirillum brasilense</i>	28.82±1.24 a	59.25±1.57 a	82.45±1.64 b	104.02±2.36 ab
Testigo	27.10±1.12 a	60.62±1.53 a	84.10±1.47 b	102.57±1.85 b

Medias (\pm error estándar) con diferente letra en una columna son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$, $n=8$) ❖ Means (\pm standard error) with different letter in a column are statistically different ($p \leq 0.05$, $n=8$).

Cuadro 3. Efecto de inoculantes microbianos sobre el diámetro del tallo de las plantas de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) entre los 30 y 120 días después del transplante (ddt).**Table 3. Effect of microbial inoculants on stem diameter of habanero pepper (*Capsicum chinense* Jacq.) plants between 30 and 120 days after transplanting (dat).**

Inoculante	Diámetro (mm) en cada fecha de evaluación			
	30 ddt	60 ddt	90 ddt	120 ddt
<i>Pseudomonas</i> spp.	4.85±0.15 a	9.19±0.22 a	11.45±0.21 a	13.21±0.22 a
<i>Rhizobagus irregularis</i>	4.52±0.19 a	9.01±0.20 a	11.08±0.19 ab	12.72±0.17 ab
<i>Azospirillum brasilense</i>	4.64±0.14 a	8.54±0.21 a	10.63±0.18 b	12.32±0.19 b
Testigo	4.28±0.19 a	8.64±0.18 a	10.87±0.18 b	12.57±0.21 ab

Medias (\pm error estándar) con diferente letra en una columna son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$) ❖ Means (\pm standard error) with different letter in a column are statistically different ($p \leq 0.05$).

genotipos de chile por su capacidad para colonizar eficientemente las raíces de este cultivo, su efecto es notable en la altura de plantas y el diámetro de tallos, y otras variables de la biomasa aérea (Lucas-García *et al.*, 2003; Sharma *et al.*, 2007).

Producción de biomasa

Los inoculantes no tuvieron efecto ($p > 0.05$) en la producción de biomasa de los órganos de las plantas 60 ddt (resultados no mostrados). La biomasa de la raíz y el tallo de las plantas inoculadas con *Pseudomonas* spp. 120 ddt fue mayor que la de las plantas del testigo, pero no respecto a las inoculadas con *R. irregularis* o *A. brasilense*. La biomasa de las hojas no fue diferente entre los tratamientos. La biomasa de las flores y de los frutos de las plantas inoculadas con *Pseudomonas* spp. fue mayor que la de las plantas tratadas con los otros inoculantes (Cuadro 4).

Biomass production

Inoculants did not show an effect ($p > 0.05$) on biomass production of plant organs (results not shown). The biomass of root and stem of plants inoculated with *Pseudomonas* spp. 120 dat was higher than that of the control plants, but not for those inoculated with *G. intraradices* or *A. brasilense*. The biomass of leaves was not different between treatments. The biomass of flowers and fruits of plants inoculated with *Pseudomonas* spp. was higher than that of plants treated with other inoculants (Table 4).

Microbial inoculants promote vegetable growth by associating successfully with the plant; thus, there are a number of events that must happen after inoculation. In particular, after the microorganisms are applied exogenously and contact the root, they must colonize and adhere to the root tissue to exert its action. Colonization takes time and

Cuadro 4. Biomasa seca 120 días después del trasplante (ddt) de los órganos de las plantas de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) tratadas con diferentes inoculantes microbianos.**Table 4. Dry biomass 120 days after transplanting (dat) of organs of habanero pepper (*Capsicum chinense* Jacq.) plants treated with different microbial inoculants.**

Inoculantes	Biomasa seca (g planta ⁻¹) a los 120 ddt					
	Raíz	Tallo	Hoja	Flor	Fruto	Total
<i>Pseudomonas</i> spp.	36.5±1.8 a	70.1±5.4 a	59.8±4.8 a	11.7±0.1 a	57.1±4.1 a	235.2±11.9 a
<i>Rhizopagus irregularis</i>	30.0±2.1 ab	58.0±4.7 ab	48.6±4.0 a	10.1±0.3 b	22.1±3.1 b	168.8±8.3 b
<i>Azospirillum brasilense</i>	29.3±2.3 ab	60.7±5.9 ab	51.1±4.4 a	10.1±0.3 b	40.3±2.5 b	191.5±11.8 b
Testigo	26.7±1.9 b	50.8±3.3 b	44.2±3.9 a	10.1±0.1 b	36.8±1.6 b	168.6±8.2 b

Medias (± error estándar) con diferente letra en una columna son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$) ❖ Means (± standard error) with different letter in a column are statistically different ($p \leq 0.05$).

Los inoculantes microbianos promueven el crecimiento vegetal al asociarse exitosamente con la planta; así, hay una serie de eventos que deben suceder después de la inoculación. En particular, después que los microorganismos son aplicados exógenamente y en contacto con la raíz, deben colonizar y adherirse al tejido radicular para ejercer su acción. La colonización requiere tiempo y sucede sólo cuando hay compatibilidad entre los microorganismos y factores intrínsecos de la planta, como los exudados de raíz (Trivedi *et al.*, 2012). Todos los anteriores son factores que ayudan a explicar la falta de efecto de los inoculantes en los primeros 60 ddt.

El efecto positivo de la inoculación con *Pseudomonas* spp. después de 120 ddt fue evidente en la promoción de crecimiento. En este sentido, el efecto particular de este inoculante pudo ser una combinación del mecanismo propio de acción del inoculante y la fertilización convencional (N, P y K), la que pudo afectar negativamente las inoculaciones con *R. irregularis* y *A. brasilense*. Por ejemplo, la fertilización química con P es muy probable que haya afectado la acción de *R. irregularis* así como la adición de N la acción de *A. brasilense*, pues la acción de estos microorganismos es particularmente significativa cuando estos elementos son limitantes en la rizosfera (Figueiredo *et al.*, 2010; Nadeem *et al.*, 2014).

Muchas especies de *Pseudomonas* además de aumentar la biodisponibilidad de nutrientes en el suelo, secretan fitohormonas que mejoran la absorción de los minerales por la planta (Saharan y Nehra, 2011). En otros estudios se comparó la eficiencia de diversos inoculantes en especies de *Capsicum*. Por

happens only when there is compatibility between microorganisms and intrinsic factors of the plant, such as root exudates (Trivedi *et al.*, 2012). All of the above are factors that help explain the lack of effect of inoculants in the first 60 dat.

The positive effect of inoculation with *Pseudomonas* spp. 120 dat was evident in promoting growth. In this regard, the particular effect of this inoculant could be a combination of the own mechanism of action of the inoculant and the conventional fertilization (N, P and K), which could have negatively affected inoculations with *R. intraradices* and *A. brasilense*. For example, chemical fertilization with P is likely to have affected the action of *R. intraradices* as well as the addition of N affected the action of *A. brasilense*, because the action of these microorganisms is particularly significant when these elements are limiting in the rhizosphere (Figueiredo *et al.*, 2010; Nadeem *et al.*, 2014).

Many species of *Pseudomonas* besides increasing the bioavailability of nutrients in the soil, secrete phytohormones that improve absorption of minerals by the plant (Saharan and Nehra, 2011). In other studies the efficiency of various inoculants on *Capsicum* species was compared. For example, Sharafzadeh (2011) obtained higher values of dry biomass (7.1 g per plant) in seedlings of *Capsicum annuum* inoculated with *Pseudomonas* sp. and *Azospirillum* sp. with respect to the control plants (5.3 g per plant). Canto-Martin *et al.* (2004) observed that the aerial and root growth of seedlings of *C. chinense* inoculated with *A. brasilense* was higher than seedlings without inoculate. This contrasts with

ejemplo, Sharafzadeh (2011) obtuvo valores mayores de biomasa seca (7.1 g por planta) en plántulas de *Capsicum annuum* inoculadas con *Pseudomonas* sp. y *Azospirillum* sp. con respecto a las plantas testigo (5.3 g por planta). Canto-Martín *et al.* (2004) observaron que el crecimiento aéreo y de la raíz de plántulas de *C. chinense* inoculadas con *A. brasilense* fue mayor que el de las plántulas sin inocular. Lo anterior contrasta con los resultados del presente estudio, pues no hubo efecto de *A. brasilense* en *C. chinense*. Esta diferencia pudo deberse a que los aislados de *A. brasilense* tienen efectividad diferente para colonizar la rizosfera y porque la fertilización con N en el presente estudio pudo afectar negativamente la efectividad del aislado, pues la adición exógena de este elemento no fue un recurso limitante en la rizosfera de las plantas.

Rendimiento y componentes del rendimiento

Las plantas inoculadas con *Pseudomonas* spp. mostraron rendimiento y peso del fruto mayores ($p \leq 0.005$) que los demás tratamientos. También, la longitud y el diámetro de los frutos de este tratamiento fueron mayores ($p \leq 0.01$) que en el tratamiento a base de *A. brasilense* (Cuadro 5).

En el presente estudio fue evidente el efecto positivo de *Pseudomonas* spp. en los componentes del rendimiento de chile habanero. Rini y Sulochiana (2006) documentaron el crecimiento y rendimiento significativamente mayor de las plantas de *C. annuum* L. inoculadas con *Pseudomonas fluorescens* respecto al testigo sin inocular. Constantino *et al.* (2008) observaron crecimiento y rendimiento mayores en las plantas de *C. chinense* tratadas con *A. brasilense* y un consorcio de *Rhizophagus* spp. en comparación con las no inoculadas. Pero en el presente estudio el efecto de *A. brasilense* y *R. irregularis* no fue significativo en el crecimiento de la planta y los frutos o el rendimiento, lo cual se debió probablemente a la fertilización química (N y P) y a la forma de inoculación. En el presente estudio la inoculación fue en el cuello de la planta en el trasplante, mientras que en el estudio de Constantino *et al.* (2008) la aplicación de los microorganismos se hizo directamente por inmersión de la raíz en una suspensión líquida de esporas o cubriendo la raíz con una formulación sólida que contenían los microorganismos.

the results of this study, since there was no effect of *A. brasilense* on *C. chinense*. This difference could be due to the fact that the isolates of *A. brasilense* have different effectiveness to colonize the rhizosphere and because the N fertilization in the present study may have adversely affected the effectiveness of the isolated since exogenous addition of this element was not a constraint resource in the rhizosphere of plants.

Yield and yield components

Plants inoculated with *Pseudomonas* spp. showed higher fruit yield and weight ($p \leq 0.005$) than those of the other treatments. Also, the length and diameter of fruits in this treatment were higher ($p \leq 0.01$) than in treatment based on *A. brasilense* (Table 5).

In the present study the positive effect of *Pseudomonas* spp. on the yield components of habanero pepper was evident. Rini and Sulochiana (2006) documented the significantly higher growth and yield of pepper plants (*C. annuum* L.) inoculated with *Pseudomonas fluorescens* compared to control without inoculate. Constantino *et al.* (2008) observed growth and yield higher in plants of *C. chinense* treated with *A. brasilense* and an association of *Rhizophagus* spp. compared with those non-inoculated. However, in this study the effect of *A. brasilense* and *R. irregularis* was not significant on plant and fruit or yield, which was probably due to chemical fertilization (N and P) and to the form of inoculation. In the present study the inoculation was performed in the neck of the plant during transplant, whereas in the study of Constantino *et al.* (2008) the application of microorganisms was carried out directly by dipping the root in a liquid suspension of spores or covering the root with a solid formulation containing the microorganisms.

Leaf nutrient content

The application of microbial inoculants had no significant effects ($p > 0.25$) on the leaf nutrient concentration. The values for leaf N content ranged from 2.65 to 2.82 %, for P from 0.23 to 0.29 % and for K from 0.58 to 0.79 %. Constantino *et al.* (2008) pointed out that the effectiveness of inoculants and concentrations of leaf N, P and K may vary according to the method of inoculation and presentation of the support of the inoculum. In

Cuadro 5. Componentes del rendimiento de plantas de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) tratadas con inoculantes microbianos diferentes.**Table 5. Yield components of habanero pepper (*Capsicum chinense* Jacq.) plants treated with different microbial inoculants.**

Inoculante	Rendimiento (g planta ⁻¹)	Peso de fruto (g)	Longitud de fruto (mm)	Diámetro de fruto (mm)
<i>Pseudomonas</i> spp.	899.8±21.2 a	8.1±0.1 a	39.0±0.3 a	29.1±0.3 a
<i>Rhizophagus irregularis</i>	637.4±27.8 b	7.4±0.2 b	37.9±0.4 ab	27.5±0.3 b
<i>Azospirillum brasilense</i>	673.8±30.5 b	7.2±0.1 b	37.0±0.4 b	27.3±0.3 b
Testigo	678.0±34.4 b	7.5±0.2 b	37.5±0.4 ab	27.8±0.3 ab

Medias (± error estándar) con diferente letra en una columna son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$). Para la variable rendimiento $n=8$; para las otras variables $n=100$ ❖ Means (± standard error) with different letter in a column are statistically different ($p \leq 0.05$). For the variable yield $n=8$; for the other variables $n=100$.

Contenido nutrimental del follaje

La aplicación de los inoculantes microbianos no tuvo efectos significativos ($p > 0.25$) en la concentración foliar de nutrimentos. Los valores para el contenido foliar de N variaron de 2.65 a 2.82 %, para P de 0.23 a 0.29 % y para K de 0.58 a 0.79 %. Constantino *et al.* (2008) señalaron que la efectividad de los inoculantes y las concentraciones de N, P y K foliar pueden variar de acuerdo con el método de inoculación y la presentación del soporte del inóculo. En ese estudio el valor mayor de N foliar se obtuvo con la inoculación combinada de *A. brasilense* y *Rhizophagus* spp. en forma sólida y directa a las raíces. La concentración foliar mayor de P y K se obtuvo con *A. brasilense* también aplicado en forma sólida a las raíces. Las concentraciones foliares de N, P y K reportadas por Constantino *et al.* (2008) fueron superiores a las del presente estudio.

CONCLUSIONES

La aplicación de *Pseudomonas* spp. en el cuello de las plantas de chile habanero al momento del trasplante promueve el crecimiento y acumulación de biomasa aérea y radical. Las *Pseudomonas* spp. permiten incrementar la biomasa de los frutos y el rendimiento. En las condiciones de este estudio, el contenido de N, P y K del follaje no varió significativamente por efecto de la inoculación con *Pseudomonas* spp. Así, el uso de este inoculante microbiano puede ser una estrategia sostenible para incrementar la productividad de chile habanero.

that study the highest value of leaf N was obtained with the inoculation combined of *A. brasilense* and *Rhizophagus* spp. in solid form and direct to the roots. The greatest leaf concentration of P and K was obtained with *A. brasilense* also applied in solid form to roots. Leaf concentrations of N, P and K reported by Constantino *et al.* (2008) were higher than those in our study.

CONCLUSIONS

The application of *Pseudomonas* spp. in the collar of habanero pepper plants at transplanting promotes growth and accumulation of aerial and root biomass. *Pseudomonas* spp. allows for the increase of yield and biomass of fruits. Under the conditions of this study leaf N, P and K content did not vary significantly by effect of inoculation with *Pseudomonas* spp. Thus, the microbial inoculant can be used as a sustainable strategy to increase the productivity of habanero pepper.

—End of the English version—



LITERATURA CITADA

- Alcántar-González, G., y M. Sandoval-Villa. 1999. Manual de análisis químico de tejido vegetal. Publicación Especial 10. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo. Chapingo, Estado de México.
- Alvarado-Carrillo, M., A. Díaz-Franco, y M. A. Peña del Río. 2014. Productividad de tomate mediante micorriza arbuscular en agricultura protegida. Rev. Mex. Cienc. Agr. 5: 513-518.

- Canto-Martín, J. C., S. Medina-Peralta, y D. Morales-Avelino. 2004. Efecto de la inoculación con *Azospirillum* sp. en plantas de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacquin). Trop. Subtrop. Agroecosys. 4: 21-27.
- Compant, S. C. Clement, and A. Sessitsch. 2010. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: their role, colonization, mechanisms involved and prospect for utilization. Soil Biol. Biochem. 42: 669-678.
- Constantino M., R. Gómez-Álvarez, J. D. Álvarez-Solís, V. Geissen, E. Huerta, and E. Barba. 2008. Effect of inoculation with rhizobacteria and arbuscular micorrizal fungi on growth and yield of *Capsicum chinense* Jacquin. J. Agric. Rural Develop. Trop. Subtrop. 109: 169-180.
- Díaz-Franco, A., J. R. Salinas-García, F. Espinosa-Sandoval, M. A. Peña del Río, F. R. de la Garza Requena, y O. A. Grageda-Cabrera. 2014. Características de planta, suelo y productividad entre sorgo fertilizado e inoculado con micorriza arbuscular. Rev. Mex. Cienc. Agr. 5: 379-390.
- Díaz-Franco, A., F. E. Ortiz-Cháirez, M. G. Lozano-Contreras, G. A. Aguado-Santacruz, and O. A. Grageda-Cabrera. 2013. Growth, mineral absorption and yield of maize inoculated with microbe strains. Afr. J. Agric. Res. 8: 3764-3769.
- Figueiredo, M. V. B., L. Seldin, F. F. Araujo, and Mariano R. L. R. 2010. Plant Growth promoting rhizobacteria: Fundamentals and applications. In: Maheshwari, D. K. (ed). Plant Growth and Health Promoting Bacteria. Springer-Verlag. pp: 21-43.
- Lozano-Contreras, M. G., F. Rivas-Pantoja, and J. F. Castillo-Huchim. 2013. Growth of *Brachiaria brizantha* seedlings in response to the application of mycorrhizal fungi and diazotrophic bacteria. Pastos y Forrajes 36: 233-237.
- Lucas-García J. A., M. Schloter, T. Durkaya, A. Hartmann, and F. J. Gutiérrez-Mañero. 2003. Colonization of pepper roots by a plant growth promoting *Pseudomonas fluorescens* strain. Biol. Fertil. Soils 37: 381-385.
- Lugtenberg, B., and F. Kamilova. 2009. Plant growth promoting rhizobacteria. Ann. Rev. Microbiol. 63: 541-556.
- Kang, S. H., S. C. Hyun, C. Hoon, M. R. Choong, F. K. Jihyun, and H. P. Seung. 2007. Two bacterial endophytes eliciting both plant growth promotion and plant defense on pepper (*Capsicum annuum* L.). J. Microbiol. Biotechnol. 17: 96-103.
- Mardero, S., E. Nickl, B. Schmook, L. Scheiner, J. Rogan, Z. Christman, y D. Lawrence. 2012. Sequías en el sur de la península de Yucatán: análisis de la variabilidad anual y estacional de la precipitación. Investigaciones geográficas, Boletín del Instituto de Geografía-Unam 78: 19-33.
- Nadeem, S. M., M. Ahmad, Z. A. Zahir, A. Javaid, and M. Ashraf. 2014. The role of mycorrhizae and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in improving crop productivity under stressful environments. Biotechnol. Adv. 32(2): 429-448.
- Orona-Castro, F., M. G. Lozano-Contreras, M. Tucuch-Cauich, O. A. Grageda-Cabrera, J. Medina-Mendez, A. Díaz-Franco, E. Ruiz-Sánchez, and J. Soto-Rocha. 2013. Response of rice cultivation to biofertilizers in Campeche, Mexico. Agr. Sci. 4: 715-720.
- Parmar, N., and J. Dufresne. 2011. Beneficial interactions of the plant growth promoting rhizosphere microorganisms. In: Singh, A., N. Parmar, and R. C. Kuhad (eds). Bioaugmentation, Biostimulation and Biocontrol. pp: 27-42.
- Rini, C. R., and K. K. Sulochana. 2006. Management of seedling root of chilli (*Capsicum annuum* L.) using *Trichoderma* spp. and fluorescent pseudomonas (*Pseudomonas fluorescens*). J. Trop. Agric. 44: 79-82.
- Saharan, B. S., and V. Nehra. 2011. Plant growth promoting rhizobacteria: A critical review. LSMR 21: 1-29.
- Sharafzadeh, S. 2011. Effects of PGPR on growth and nutrients uptake. IJAET 2: 27-31.
- Sharma A., A. Pathak, M. Sahgal, J-M. Meyer, V. Wray, and B. N. Johri. 2007. Molecular characterization of plant growth promoting rhizobacteria that enhance peroxidase and phenylalanine ammonia-lyase activities in chile (*Capsicum annuum* L.) and tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Arch. Microbiol. 188: 483-494.
- Sistema de información agroalimentario y pesquera (SIAP). 2011. Anuario estadístico - Agricultura. SAGARPA. (www.siap.gob.mx) (Consulta: febrero, 2013).
- Soria F., M., J. Tun S., A. Trejo R. y R. Terán S. 2002. Tecnología para Producción de Hortalizas a Cielo Abierto en la Península de Yucatán. SEP-DGETA. 3ª Edición. Conkal. Yucatán, México. 430 p.
- Trivedi, P., A. Pandey, and L. M. Palni. 2012. Bacterial inoculants for field applications under mountain ecosystems: present initiatives and future prospects. In: Maheshwari, D. K. (ed). Bacteria in Agrobiolog: Plant Probiotics. Springer-Verlag. pp: 15-44.
- Zhang, W. L., Z. X. Tian, N. Zhang, and X. Q. Li. 1996. Nitrate pollution of groundwater in northern China. Agr. Ecosyst. Environ. 59: 223-231.