



UNIVERSITAT  
POLITÈCNICA  
DE VALÈNCIA

Mejora genética del chile  
(*Capsicum annum*, L.) para  
estrés biótico: Oídio (*Leveillula  
taurica*, (Lév.) Arn.) y fertilidad  
del suelo: retos de la agricultura  
ecológica y búsqueda de  
fuentes de variación de interés y  
factores genéticos relacionados

**Tesis Doctoral**

Ivan Ilich Morales Manzo

**Directores:**

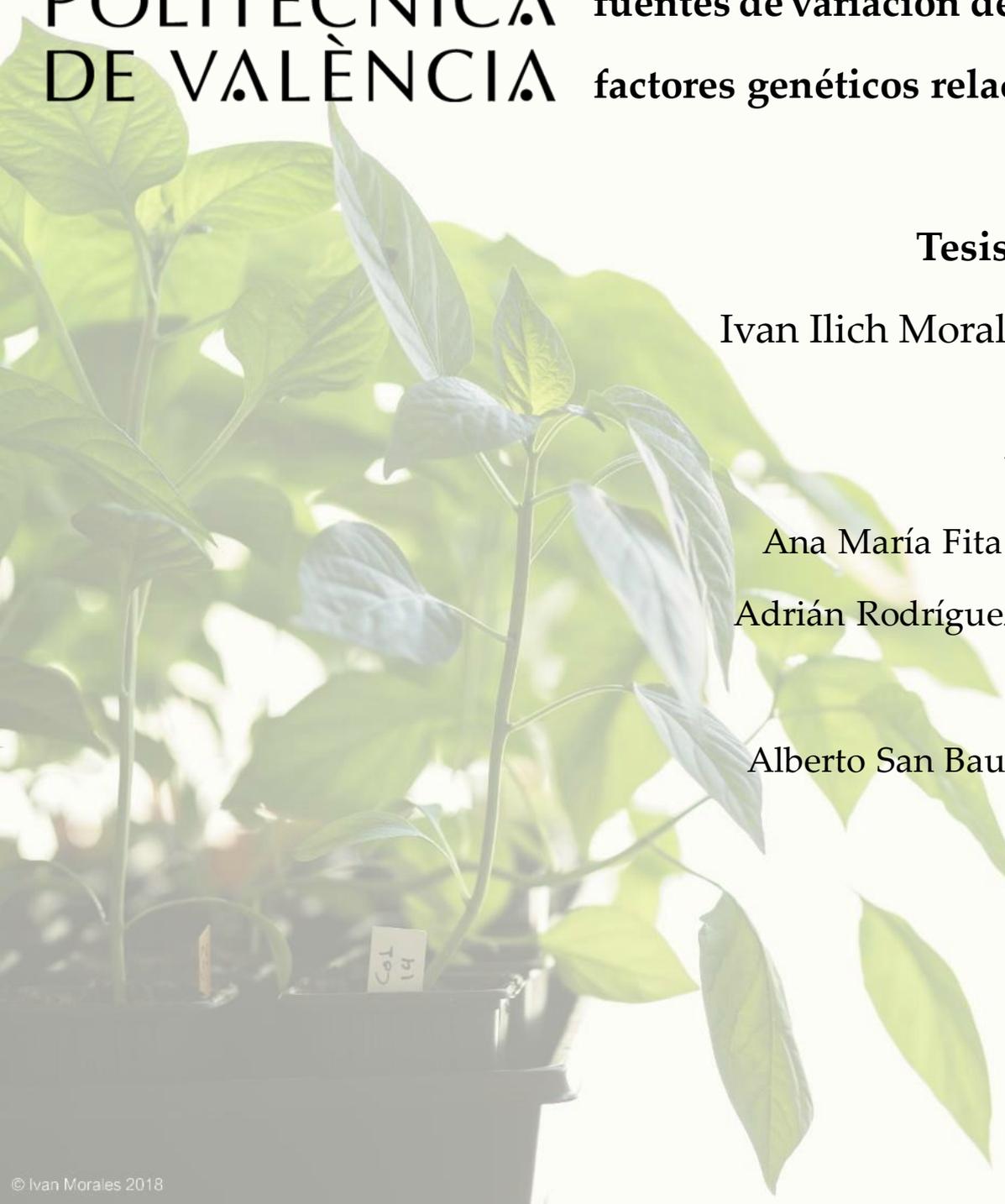
Ana María Fita Fernández

Adrián Rodríguez Burruezo

**Tutor:**

Alberto San Bautista Primo

**Abril 2023**



Resumen.....	3
Resum .....	4
Summary.....	5
1. Introducción.....	6
1.1. Importancia económica de <i>Capsicum</i> L.....	7
1.2. Origen etimológico y taxonómico del género <i>Capsicum</i> .....	10
1.3. Historia natural del género <i>Capsicum</i> .....	11
1.4. Taxonomía de especies más explotadas en España y México.....	14
1.5. Mejora genética vegetal.....	17
1.6. Agricultura sostenible .....	19
1.7. Estrés biótico: Oídio, caracterización y dificultades para su estudio.....	21
1.8. El suelo e interacciones: importancia, interacción cultivos-suelos y estudio integral..	22
2. Objetivos.....	28
3. Capítulo 1: Estudio de la respuesta al oídio ( <i>Leveillula taurica</i> ) en chiles y pimientos.....	29
3.1. Introducción.....	30
3.2. Materiales y métodos.....	32
3.3. Resultados.....	37
3.4. Discusión .....	45
3.5. Conclusiones.....	47
3.6. Referencias bibliográficas.....	47
4. Capítulo 2: Estudio de la interacción del suelo rizosférico y el sistema radicular de genotipos de <i>Capsicum spp</i> ; Influencia del manejo agronómico ecológico y convencional....	52
4.1. Introducción.....	53
4.2. Materiales y métodos.....	55
4.3. Resultados.....	60
4.4. Discusión .....	81
4.5. Conclusiones.....	90
4.6. Referencias bibliográficas.....	91
5. Capítulo 3: Efectos del manejo del suelo y la diversidad de cultivos de <i>Capsicum</i> en las comunidades microbianas del suelo.....	102
5.1. Introducción.....	103
5.2. Materiales y métodos.....	104

Mejora del chile: resistencias e interacción con el suelo	2
5.3. Resultados.....	112
5.4. Discusión .....	126
5.5. Conclusiones.....	129
5.6. Referencias bibliográficas.....	130
6. Discusión general.....	134
7. Conclusiones generales.....	140
8. Referencias bibliográficas generales.....	143
9. Agradecimientos.....	151

## Resumen

El pimiento (*C. annuum*) ocupa un importante lugar en la economía agrícola del mundo y en particular para España. La agricultura intensiva empleada en las últimas décadas está demostrando no ser sostenible a largo plazo, esto, y la aceleración del cambio climático, hace necesario la búsqueda de plantas más adaptadas a las nuevas presiones de estresores tanto bióticos como abióticos. Adicional al uso de variedades mejoradas para este tipo de estresores, es importante tomar en cuenta las interacciones que ocurren en el suelo e introducirlas en los programas de mejora genética vegetal. Por ello, esta tesis se ha centrado, por un lado, en la búsqueda de fuentes de resistencia frente a oídio (*L. taurica*), enfermedad que cada vez está resultando más problemática en pimiento, especialmente en agricultura ecológica. Por otro lado, y teniendo en cuenta la importancia de la sanidad y fertilidad del suelo para la resiliencia de los cultivos, se estudia la interacción del sistema radicular del pimiento con la zona de la rizosfera y la microbiota de la raíz. Como principales resultados obtenidos en la presente tesis se pueden destacar la identificación de fuentes de resistencia a oídio en las accesiones de *C. annuum* var. *glabriusculum*, lo que puede facilitar la introducción de genes de resistencia en variedades comerciales de pimientos. Además, se ha demostrado cómo las propiedades de la rizosfera (actividad enzimática, movilización de nitrógeno, respiración) y su microbioma es altamente dependiente de las condiciones de cultivo y del genotipo cultivado. Así se observó que la parcela de cultivo ecológico mostró mayores recuentos microbianos, actividades enzimáticas y movilización de nitrógeno que la convencional además de poseer más diversidad microbiana y mayor recuento de microorganismos. Por último, se observó también una gran especificidad de la interacción suelo-planta, observándose cómo ciertos microorganismos beneficiosos colonizaban preferentemente ciertos genotipos. Esta especificidad debería de ser considerada para futuros programas de mejoramiento para una agricultura más sostenible y adaptada.

## Resum

El pebrot (*C. annuum*) ocupa un lloc important en l'economia agrícola del món i en particular per a Espanya. L'agricultura intensiva emprada en les últimes dècades està demostrant no ser sostenible a llarg termini, açò, i l'acceleració del canvi climàtic, fa necessari la recerca de plantes més adaptades a les noves pressions d'estressors tant biòtics com a abiòtics. Addicional a l'ús de varietats millorades per a este tipus d'estressors, és important tindre en compte les interaccions que ocorren en el sòl i introduir-les en els programes de millora genètica vegetal. Per açò, aquesta tesi s'ha centrat, d'una banda, en la recerca de fonts de resistència front a oídi (*L. taurica*), malaltia que cada vegada està resultant més problemàtica en pebrot, especialment en agricultura ecològica. D'altra banda, i tenint en compte la importància de la salut i fertilitat del sòl per a la resiliència dels cultius, s'estudia la interacció del sistema radicular del pebrot amb la zona de la rizosfera i la microbiota de l'arrel. Com a principals resultats obtinguts en la present tesi es poden destacar la identificació de fonts de resistència a oídi en les accessions de *C. annuum* var. *glabriusculum*, la qual cosa pot facilitar la introducció de gens de resistència en varietats comercials de pebrots. A més, s'ha demostrat com les propietats de la rizosfera (activitat enzimàtica, mobilització de nitrogen, respiració) i el seu microbioma és altament dependent de les condicions de cultiu i del genotip cultivat. Així es va observar que la parcel·la de cultiu ecològic va mostrar majors recomptes microbians, activitats enzimàtiques i mobilització de nitrogen que la convencional, a més de posseir més diversitat microbiana i major recompte de microorganismes. Finalment, es va observar també una gran especificitat de la interacció sòl-planta, observant-se com certs microorganismes beneficiosos colonitzaven preferentment certs genotips. Aquesta especificitat hauria de ser considerada per a futurs programes de millorament per a una agricultura més sostenible i adaptada.

## Summary

The pepper (*C. annuum*) holds an important place in the global agricultural economy and particularly for Spain. Intensive agriculture used in recent decades is proving not to be sustainable in the long term, and, coupled with the acceleration of climate change, it necessitates the search for plants more adapted to new pressures from both biotic and abiotic stressors. In addition to using improved varieties for these types of stressors, it is important to consider the interactions that occur in the soil and incorporate them into plant genetic improvement programs. Therefore, this thesis has focused on one hand, on the search for sources of resistance against powdery mildew (*L. taurica*), a disease that is increasingly problematic in pepper, especially in organic agriculture. On the other hand, considering the importance of soil health and fertility for crop resilience, the interaction of the pepper root system with the rhizosphere zone and root microbiota is studied. The main results obtained in this thesis include the identification of sources of resistance to powdery mildew in the accessions of *C. annuum* var. *glabriusculum*, which can facilitate the introduction of resistance genes in commercial pepper varieties. Furthermore, it has been shown how the properties of the rhizosphere (enzymatic activity, nitrogen mobilization, respiration) and its microbiome are highly dependent on the cultivation conditions and the cultivated genotype. It was observed that the organic farming plot showed higher microbial counts, enzymatic activities, and nitrogen mobilization than the conventional one, in addition to possessing greater microbial diversity and higher counts of microorganisms. Lastly, a high specificity of the soil-plant interaction was also observed, with certain beneficial microorganisms preferentially colonizing specific genotypes. This specificity should be considered for future breeding programs for more sustainable and adapted agriculture.

## 1. Introducción



### 1.1. Importancia económica de *Capsicum* L.

Dentro del género de origen americano, *Capsicum*, encontramos lo que comúnmente conocemos como ajíes, chiles o pimientos. Estos suelen consumirse como verdura, en forma seca e incluso como polvos para condimentar y dar color a los alimentos y existen estimaciones que establecen su uso desde tiempo precoloniales, tan remotos como hace 6.000 años antes de la era común (a.e.c.) (Perry, *et al.*, 2007). Su enorme distribución a nivel mundial no solo ha generado una gran cantidad de variedades tradicionales adaptadas al gusto y forma de uso de cada país, sino incluso variedades de tipo ornamental (Figura 1a y 1b). A nivel mundial su cultivo le coloca entre las hortalizas más importantes, ocupando el séptimo lugar a nivel de producción y tercero por área sembrada (más de 3.6 millones de hectáreas) considerando también la producción dedicada a la comercialización en forma seca (FAOSTAT, 2021, Tabla 1).

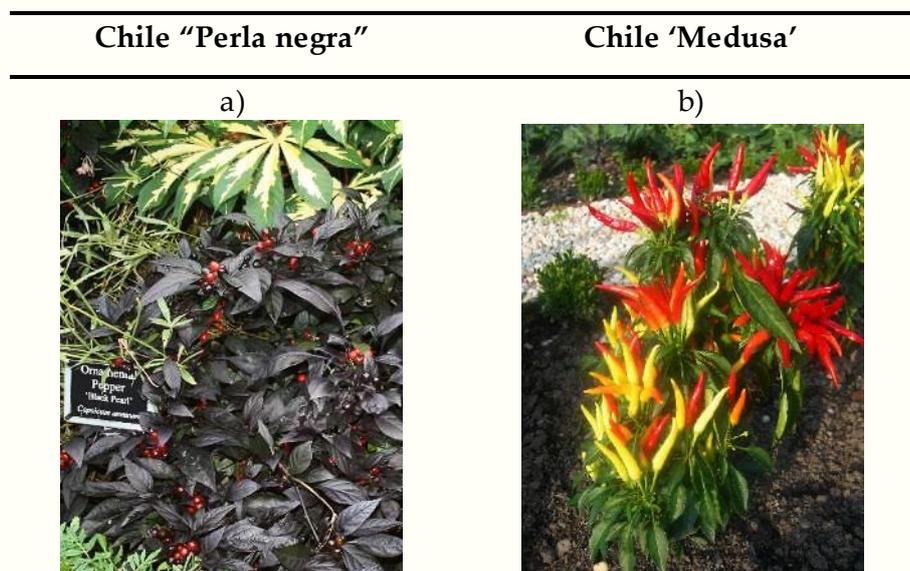


Figura 1. Ilustraciones representativas de cultivares ornamentales de *Capsicum annuum*: a) Chile "Perla negra" por PeterWesco, CC BY-SA 3.0, 2011; b) Chile "Medusa" por Atilin, CC BY 3.0, 2008

Tabla 1. Principales 12 hortalizas producidas a nivel mundial, con detalle en la producción (toneladas) y el área cultivada (hectáreas). FAOSTAT, 2021.

Hortaliza	Producción (t)	Área cultivada (ha)
Tomates	189.133.955	5.167.388
Cebollas	111.154.619	5.994.703
Sandías	101.634.720	3.031.544
Pepinos	93.528.796	2.172.193
Repollos	71.707.239	2.450.601
Berenjenas	58.646.098	1.961.799
<b>Chiles, pimientos y ajíes (fresco)</b>	<b>36.286.644</b>	<b>2.055.310</b>
Coliflores y brécoles	25.843.741	1.378.085
Judías (fresco)	24.721.174	1.722.414
Calabazas	23.783.936	1.501.696
Guisantes (fresco)	20.529.759	2.590.367
<b>Chiles, pimientos y ajíes (seco)</b>	<b>4.839.309</b>	<b>1.619.924</b>

Entre los diez países con mayor producción a nivel mundial para su comercialización como hortaliza fresca, China ocupa el primer lugar produciendo más de 16 millones de toneladas y, entre los países hispanohablantes, México el cuarto con 2,5 millones y España el quinto con 1,5 millones de toneladas en el año 2021 (FAOSTAT, Tabla 2).

Tabla 2. Principales 10 países productores de ajíes, chiles o pimientos a nivel mundial, con detalle en la producción (toneladas) y el área cultivada (hectáreas). FAOSTAT, 2021.

País	Producción (t)	Área cultivada (ha)
<b>China</b>	<b>16.721.691</b>	<b>754.718</b>
Turquía	3.091.295	80.239
Indonesia	2.747.018	321.923
<b>México</b>	<b>2.584.144</b>	<b>147.808</b>
<b>España</b>	<b>1.511.560</b>	<b>22.240</b>
Egipto	862.127	47.892

País	Producción (t)	Área cultivada (ha)
Nigeria	759.134	101.335
Estados Unidos de América	531.202	16.916
Países bajos	440.000	1.630
Túnez	430.000	18.996

Como producto de exportación, también es de gran importancia para la economía de los distintos países que lo producen, siendo Vietnam el mayor exportador con 270 mil toneladas, para el caso de España y México rondan las 3 mil toneladas (Tabla 3, FAOSTAT, 2020).

*Tabla 3. Principales 30 países exportadores de ajíes, chiles o pimientos a nivel mundial, con detalle en el volumen de las exportaciones (miles de toneladas, mt). FAOSTAT, 2020.*

País	Vol. (mt)	País	Vol. (mt)	País	Vol. (mt)
<b>Vietnam</b>	<b>259</b>	Francia	6	Polonia	2
Brasil	90	Madagascar	5	Turquía	2
Indonesia	58	Sudáfrica	5	Bélgica	1
Emiratos Árabes Unidos	17	Myanmar	4	Bulgaria	1
India	17	Camboya	3	Canadá	1
Alemania	14	China	3	Chequia	1
Sri Lanka	10	Ecuador	3	Egipto	1
Malasia	9	<b>España</b>	<b>3</b>	Etiopía	1
Estados Unidos de América	8	<b>México</b>	<b>3</b>	Rusia	1
Países Bajos	8	Austria	2	Guatemala	1

Es interesante observar que quien es el mayor exportador, no aparece entre los 10 principales países productores. Esto debido a que los mayores productores lo son principalmente para un consumo interno y de forma marginal, llevan a cabo la exportación. No así Vietnam.

Este panorama inicial, nos ayuda a tener una mejor comprensión de la importancia del cultivo y su importancia dentro de los países productores y su peso en el consumo interno, y también, pero en un rol bastante secundario como un producto de exportación.

## 1.2. Origen etimológico y taxonómico del género *Capsicum*

El termino *Capsicum* para designar al género que engloba a los ajíes, chiles y pimientos fue usado por primera vez en 1700 por Tournefort (Figura 2b) en *Institutiones rei herbariae* (Figura 2a). Aunque no hay registros del motivo para llamar así al género, se considera que es la forma latina de “capsula”, por la característica forma del fruto, al ser habitualmente frutos vacíos.

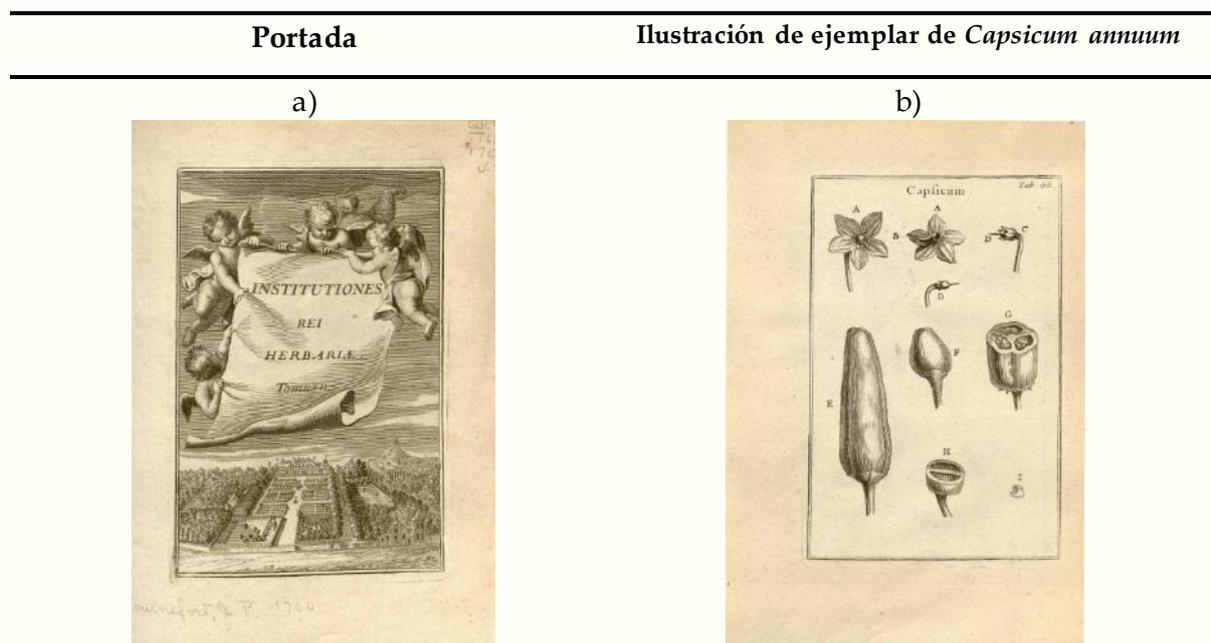


Figura 2. a) Portada de *Institutiones rei herbariae* de Tournefort, Tomus II (1700); b) Ilustración del ejemplar de tipo usado para establecer el nombre *Capsicum* al género.

Posteriormente Carlos Linneo (Carl von Linné, nombre ennoblecido) en *Species plantarum*, en 1753 nombra a *Capsicum annuum* (el epíteto específico hace referencia a

la característica “anual” de la herbácea) y le describe, de ahí que formalmente se reconozca con el protólogo “L., Sp.Pl. 1:188 (1753)” (Figura 3a y 3b).

## Página 188

## Página 189

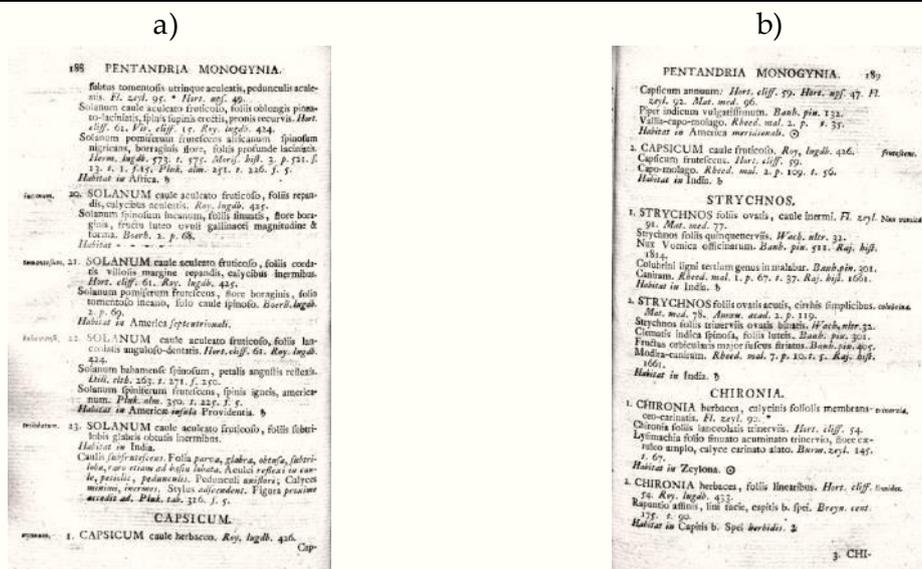
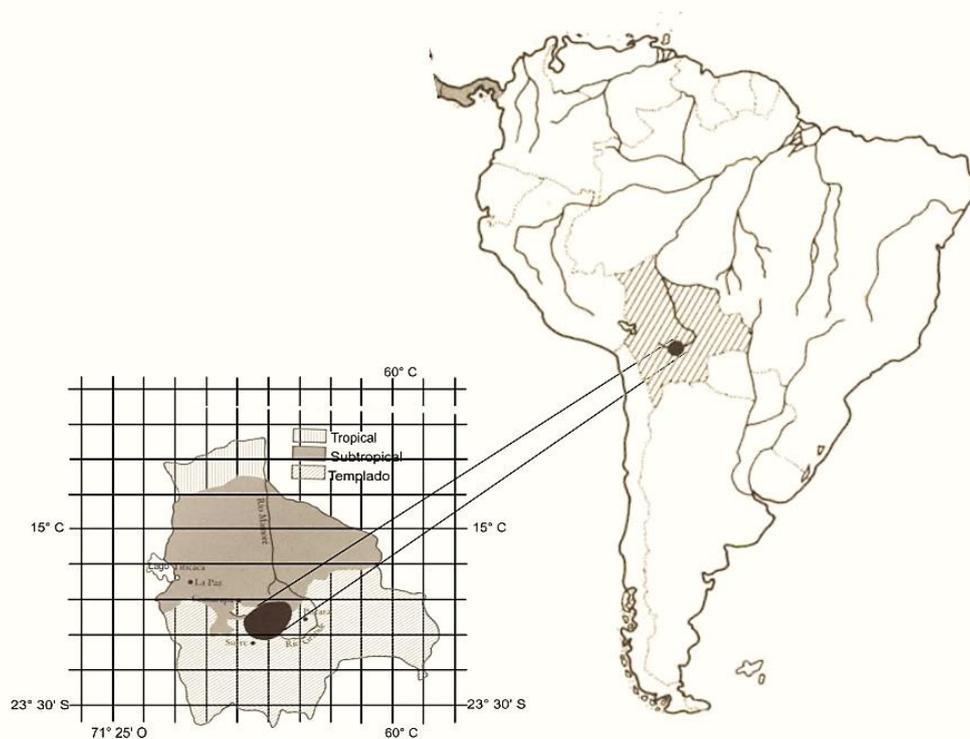


Figura 3. a) Página 188 donde se hace la primera mención al género *Capsicum* en *Species plantarum*, Tomus II; b) página 189 donde se hace la primera mención a la especie *C. annuum* en *Species plantarum*, Tomus II.

### 1.3. Historia natural del género *Capsicum*

El origen de todas las especies del género *Capsicum* está en el continente americano. Se considera que fue en Sudamérica a partir de un “área núcleo” en Bolivia surcentral (Heiser, 1964) (Figura 4), donde se plantea que posteriormente migraron hacia los Andes y tierras bajas de la Amazonia, seguido por procesos de radiación y especiación (McLeod *et al.*, 1982) (Figura 5). Esta hipótesis está basada en el resultado del análisis de la enzima glutamato oxalacetato transaminasa (GOT) y datos geográficos de entradas de *C. eximium* y *C. chacoense* de esta área nuclear propuesta. Al parecer un antepasado de *C. chacoense* fue quien dio origen a los grupos de flores moradas y también al de flores blancas.

Además, se proponen dos hipótesis sobre el proceso migratorio posterior: Para el grupo de flores blancas se considera que fue a través del río Mizque, el ancestro de *C. baccatum* llegó a tierras bajas de la cuenca amazónica, en un área más al sur de Bolivia y posteriormente siguió migrando por la cuenca para dar origen al ancestro de *C. annuum*. En el caso del grupo de flores moradas (*C. eximium*), fue en sentido opuesto, inicialmente dando origen a la especie *C. cardenasii* como especie silvestre (pero ya siendo explotada por los habitantes de la zona) y posteriormente a la especie domesticada *C. pubescens*.



---

Figura 4. Área geográfica propuesta en Montes et al. (2010).

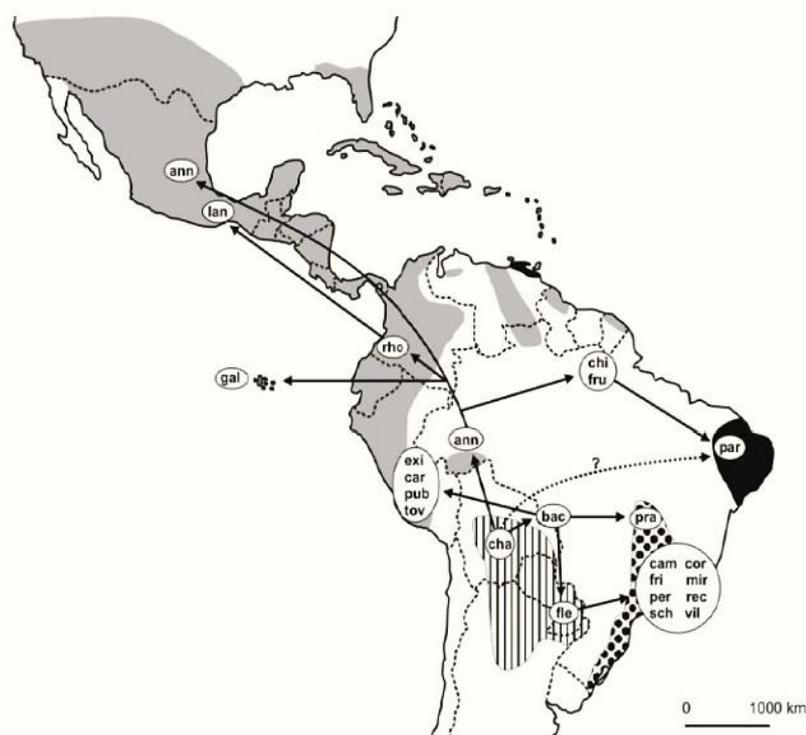


Figura 5. Esquema geográfico de la migración y especiación de *Capsicum* de Montes *et al.* (2010). Abreviación de los nombres de las especies: ann = *C. annuum*, bac = *C. baccatum*, cam = *C. campylopodium*, car = *C. cardenasii*, cha = *C. chacoense*, chi = *C. chinense*, cor = *C. cornutum*, exi = *C. eximium*, fle = *C. flexuosum*, fri = *C. friburgense*, fru = *C. frutescens*, gal = *C. galapagoense*, lan = *C. lanceolatum*, mir = *C. mirabile*, par = *C. parvifolium*, per = *C. pereirae*, pra = *C. praetermissum*, pub = *C. pubescens*, rec = *C. recurvatum*, rho = *C. rhomboideum*, sch = *C. schottianum*, tov = *C. tovarii*, vil = *C. villosum*

A manera de resumen, podemos decir que inicialmente el primer evento que dio origen y generó una enorme diversificación acompañada de las primeras domesticaciones de las diferentes especies de *Capsicum* sucedió en Sudamérica, atravesando un cuello de botella al migrar hacia el norte por Centroamérica hacia Norteamérica, este último donde hubo un segundo evento de diversificación. A partir del siglo XVI, algunas de las especies ya domesticadas de *Capsicum* (particularmente *C. annuum*) llegan a Europa y de ahí migran hacia África y Asia donde la diversificación continuaría hasta nuestros días, sitios que hoy podemos sin lugar a duda considerar como centros de diversificación terciarios (Figura 6. Tripodi *et al.*, 2021).

#### 1.4. Taxonomía de especies más explotadas en España y México.

Ahora bien, como mencionábamos al inicio, *Capsicum* cuenta con diferentes especies, pero solo algunas son cultivadas. En la actualidad, el género tiene reconocidas 36 especies diferentes y una variedad (Tabla 4. WFO, 2022), de las cuales se consideran 9 cultivadas y con fines alimenticios, 4 de las que se tiene conocimiento que son consumidas por humanos, pero son colectadas en el medio silvestre, y el resto de las que no se tienen registros de consumo ni de ser cultivadas por el humano (Barboza *et al.*, 2022).

---

#### Mayores vectores migratorios para *Capsicum spp.*

---

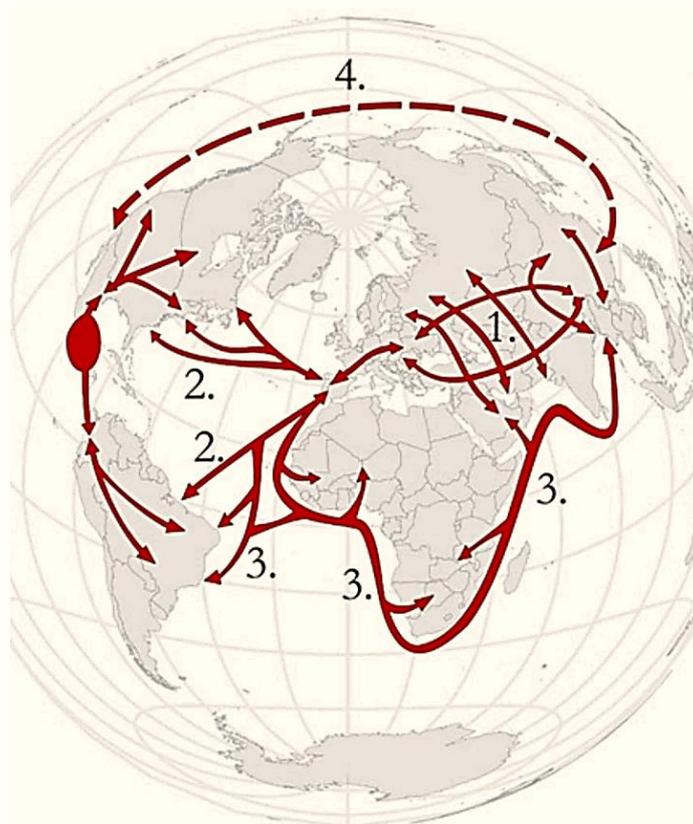


Figura 6. De Tripodi *et al.*, (2021) "Interpretación de los mayores vectores regionales de intercambio de pimientos basado en la integración de los datos". 1. Los solapamientos genotípicos relativos (RGO, por sus siglas en inglés) sugieren que su distribución sigue longitudinalmente las rutas de comercio otomanas; 2. RGOs sugieren una distribución relacionada con el comercio trasatlántico durante el siglo XVI; y 3. RGOs sugieren el rol de África no solo como unión entre Sudamérica y sudeste asiático para la migración del germoplasma, sino también como centros de diversificación muy relacionado con el comercio de esclavos por parte de Portugal.

Tabla 4. Listado de especies y variedad taxonómicas (con género y epíteto específico, negritas para indicar principales especies cultivadas a nivel mundial) reconocidas para *Capsicum* por World Flora Online Plant List (WFO), autor y protólogo reconocido, de acuerdo con la última clasificación a la fecha disponible (diciembre del 2022). Adicionalmente, número cromosómico, tipos de uso: Cultivado (Cult.), No cultivado (No cult.), Alimentación (alim.), Desconocido (Desc.); (Barboza et al., 2022) y código identificador dentro de WFO.

Género y epít. espe.	Aut. y protólogo	No. Crom.	Uso	Código WFO
<b><i>Capsicum annuum</i></b>	L. Sp. Pl. 188. 1753	2n = 2x = 24	Cult. (alim.)	wfo-0001019982
<i>Capsicum annuum</i> var. <b><i>glabriusculum</i></b>	(Dunal) Heiser & Pickersgill Baileya 19: 156. 1975	2n = 2x = 24	Cult. (alim.)	wfo-0001019999
<b><i>Capsicum baccatum</i></b>	L. Mant. Pl. 47. 1767 [15-31 Oct 1767]	2n = 2x = 24	Cult. (alim.)	wfo-0001020013
<i>Capsicum caatingae</i>	Barboza & Agra Syst. Bot. 36(3): 769. 2011.	2n = 2x = 24	Desc.	wfo-0001020027
<i>Capsicum caballeroi</i>	M.Nee Brittonia 58(4): 323 (- 326; fig. 1). 2006 [28 Dec 2006]	2n = 2x = 24	Desc.	wfo-0001020028
<i>Capsicum campylopodium</i>	Sendtn. Fl. Bras. (Martius) 10: 144. 1846 [1 Jul 1846]	2n = 2x = 26	Desc.	wfo-0001020030
<i>Capsicum carassense</i>	Barboza & Bianch. PhytoKeys 140: 127. 2020	Desc	Desc.	wfo-0001429794
<i>Capsicum ceratocalyx</i>	M.Nee Brittonia 58(4): 326 (fig. 2). 2006 [28 Dec 2006]	Desc	Desc.	wfo-0001020039
<i>Capsicum chacoense</i>	Hunz. Darwiniana 9: 228, fig. 2, A-E. 1950	2n = 2x = 24	Cult. (alim.)	wfo-0001020042
<b><i>Capsicum chinense</i></b>	Jacq. Hort. Bot. Vindob. 3: 38, t. 67. 1776.	2n = 2x = 24	Cult. (alim.)	wfo-0001020046
<i>Capsicum ciliatum</i>	(Kunth) Kuntze Rev. Gen. Pl. 2: 450. 1891.	Desc	Desc.	wfo-0001020049
<i>Capsicum coccineum</i>	(Rusby) Hunz. Huitieme Congr. Int. Bot. Paris. Comptes Rend. Seances Rapp. & Commun. sect.4: 73 (1954 publ. 1956).	Desc	No cult. (alim.)	wfo-0001020050
<i>Capsicum cornutum</i>	(Hiern) Hunz. Kurtziana 1: 213. 1961	2n = 2x = 26	Desc.	wfo-0001020063
<i>Capsicum dimorphum</i>	(Miers) Kuntze Rev. Gen. Pl. 2: 449. 1891.	Desc	Desc.	wfo-0001020071
<i>Capsicum eshbaughii</i>	Barboza PhytoKeys 2: 32. 2011.	2n = 2x = 24	No cult. (alim.)	wfo-0001020080
<i>Capsicum eximium</i>	Hunz. Darwiniana 9: 235, fig. 3, A-E. 1950	2n = 2x = 24	Cult. (alim.)	wfo-0001020081
<i>Capsicum flexuosum</i>	Sendtn. Fl. Bras. (Martius) 10: 143. 1846 [1 Jul 1846]	2n = 2x = 25	Cult. (alim.)	wfo-0001020086
<i>Capsicum friburgense</i>	Bianch. & Barboza Syst. Bot. 30(4): 865 (-867, 870; figs. 2, 4). 2005 [13 Dec 2005]	2n = 2x = 26	Desc.	wfo-0001020089
<b><i>Capsicum frutescens</i></b>	L. Sp. Pl. 189. 1753	2n = 2x = 24	Cult. (alim.)	wfo-0001020090
<i>Capsicum galapagoensis</i>	Hunz. Huitieme Congr. Int. Bot. Paris. Comptes Rend. Seances Rapp. & Commun. sect.4: 73 (1954 publ. 1956).	2n = 2x = 24	Desc.	wfo-0001020107
<i>Capsicum geminifolium</i>	(Dammer) Hunz. Huitieme Congr. Int. Bot. Paris. Comptes Rend. Seances Rapp.	Desc	Desc.	wfo-0001020108

Género y epít. espe.	Aut. y protólogo	No. Crom.	Uso	Código WFO
	& Commun. sect.4: 73 (1954 publ. 1956).			
<i>Capsicum hookerianum</i>	(Miers) Kuntze Rev. Gen. Pl. 2: 449. 1891.		Desc.	wfo-0001020127
<i>Capsicum hunzikerianum</i>	Barboza & Bianch. Syst. Bot. 30(4): 867 (870; figs. 3-4). 2005 [13 Dec 2005]	2n = 2x = 26	Desc.	wfo-0001020129
<i>Capsicum lanceolatum</i>	(Greenm. ex Donn.Sm.) C.V.Morton & Standl. Publ. Field Mus. Nat. Hist., Bot. Ser. 22: 272. 1940	2n = 2x = 26	Desc.	wfo-0001020140
<i>Capsicum longidentatum</i>	Agra & Barboza Syst. Bot. 36(3): 771. 2011.	2n = 2x = 24	Desc.	wfo-0001020147
<i>Capsicum lycianthoides</i>	Bitter Repert. Spec. Nov. Regni Veg. 17: 332. 1921.	2n = 2x = 26	Desc.	wfo-0001020153
<i>Capsicum minutiflorum</i>	(Rusby) Hunz. Kurtziana 1: 213. 1961		Desc.	wfo-0001020173
<i>Capsicum mirabile</i>	Mart. Fl. Bras. (Martius) 10: 144. 1846	2n = 2x = 26	Desc.	wfo-0001020174
<i>Capsicum parvifolium</i>	Sendtn. Fl. Bras. (Martius) 10: 145. 1846 [1 Jul 1846]	2n = 2x = 24	Desc.	wfo-0001020188
<i>Capsicum pereirae</i>	Barboza & Bianch. Syst. Bot. 30(4): 863 (-865, 870; figs. 1, 4). 2005 [13 Dec 2005]	2n = 2x = 26	Desc.	wfo-0001020196
<i>Capsicum pubescens</i>	Ruiz & Pav. Fl. Peruv. [Ruiz & Pavon] 2: 30. 1799	2n = 2x = 24	Cult. (alim.)	wfo-0001020201
<i>Capsicum recurvatum</i>	Witasek Denkschr. Kaiserl. Akad. Wiss., Wien. Math.-Naturwiss. Kl. 79: (advance separate) 9, fig. 6 h-k. 1910. (also in 79(2): 321. 1931)	2n = 2x = 26	Desc.	wfo-0001020214
<i>Capsicum rhomboideum</i>	(Dunal) Kuntze Rev. Gen. Pl. 2: 448. 1891.	2n = 2x = 26	No cult. (alim.)	wfo-0001020215
<i>Capsicum schottianum</i>	Sendtn. Fl. Bras. (Martius) 10: 143. 1846 [1 Jul 1846]	2n = 2x = 26	Desc.	wfo-0001020219
<i>Capsicum scolnikianum</i>	Hunz. Kurtziana 1: 213, fig. 3. 1961		Desc.	wfo-0001020223
<i>Capsicum tovarii</i>	Eshbaugh, P.G.Sm. & Nickrent Brittonia 35: 55 (-56), fig. 1983	2n = 2x = 24	No cult. (alim.)	wfo-0001020250
<i>Capsicum villosum</i>	Sendtn. Fl. Bras. (Martius) 10: 144. 1846 [1 Jul 1846]	2n = 2x = 26	Desc.	wfo-0001020257

Es de llamar la atención como, a diferencia de otras hortalizas, son en realidad cinco especies las que abarcan a nivel mundial el cultivo y consumo (Thakur, *et al.*, 2021), *C. annuum*, *C. baccatum*, *C. chinense*, *C. frutescens*, y *C. pubescens*. Esto podríamos considerarlo como el reflejo no solo de la enorme diversidad dentro de este cultivo, sino del vínculo entre los diferentes grupos poblacionales y sus alimentos. Aunque la tendencia hoy en día es hacia la homogenización de los cultivos y esto conlleva un

gran riesgo no solo por la erosión genética misma que incrementa su susceptibilidad a las amenazas bióticas y abióticas, sino por la propia amenaza que es hacia la seguridad alimentaria y la soberanía de los pueblos sobre ella (Khoury *et al.*, 2021). La diversidad actualmente explotada puede ser potenciada si añadimos el resto de las especies cultivadas a nivel más local como *C. chacoense* o la variedad *C. annuum var. glabriusculum* y ni hablar de las no cultivadas silvestres, pero comestibles, como *C. rhomboideum*.

### 1.5. Mejora genética vegetal

Como hemos mencionado, hace milenios que cada región del mundo ha ido estableciendo sus propios usos para las diferentes especies de *Capsicum* y de ahí se ha dado el desarrollo de formas, tamaños, sabores y otros cambios adaptativos, siendo así que existían una gran diversidad de, lo que llamaríamos hoy en día, objetivos de mejora, aunque claro eran conseguidos más bien por métodos empíricos (Hancock, 2004), o de “prueba y error”. Gracias a los avances como la identificación del sexo en las plantas (Rudolf Camerarius en 1694) a finales del siglo XVII, el primer manual sobre cruza en el siglo XVIII (Thomas Fairchild en 1717), y el trabajo de Gregorio Mendel (“Experimentos sobre la hibridación vegetal”, 1865) es que pudieron desarrollarse los métodos de selección y mejora en forma para llevarlo a cabo de forma sistematizada (Lee *et al.*, 2015). Durante esta primera fase de desarrollo de los métodos de mejora el concepto de “gen” aún no era formulado, aunque podría considerarse que se encuentra implícito en el trabajo de Mendel, esto ocurrió hasta inicios del siglo XX por Wilhelm Johannsen en “*Limitations of natural selection on pure lines*” (1909). En el último siglo, la mejora vegetal ha tenido un enorme desarrollo, la FAO ha reconocido como entre 1965 y 1985 fue tal el desarrollo de los cultivos pues se identificaron incrementos en el rendimiento a nivel mundial hasta de un 56%. Este crecimiento fue llamado la “revolución verde” y fue el producto de la introducción de variedades mejoradas, el uso de fertilizantes y pesticidas y riego mucho más eficiente



## 1.6. Agricultura sostenible

El sector de la agricultura, además de importantes aspectos económicos, tiene una influencia directa en el mantenimiento del medio rural y del medio natural. Así, desde la Conferencia Ministerial de Agricultura de la OCDE de abril de 2016 se identificó como objetivo esencial contribuir a una producción y uso sostenibles de los recursos, siendo prioritarios el agua, la tierra y la biodiversidad, así como permitir una adaptación y mitigación efectiva del cambio climático. Con ello se pretende fomentar una agricultura más competitiva, a la vez que sostenible, de bajos insumos, y en armonía con el medio ambiente. De hecho, estos sistemas sostenibles han evolucionado de niveles casi testimoniales a ser de interés estratégico en muchos países. Así, la agricultura ecológica está adquiriendo una importancia creciente en los últimos años, e importantes instituciones y órganos de gobierno como la Unión Europea, incluyendo la reciente estrategia *Farm-to-Fork* dentro del *European Green Deal*, llevan años promoviendo el desarrollo e implementación de este modelo de agricultura sostenible.

A este respecto, la agricultura es uno de los sectores económicos fundamentales de la UE, en el que trabajan más de 20 millones de personas y la propia Política Agrícola Común se dirige a una agricultura más sostenible, con menor impacto ambiental, eficiente en el uso de recursos, y que contribuya a la adaptación y mitigación del cambio climático (European Commission, 2017). Estas prioridades coinciden con una mayor demanda de los ciudadanos y consumidores por una agricultura respetuosa con el medio ambiente, como la agricultura ecológica y de bajos insumos, y que proporcione productos con menos residuos y de mejor calidad. En este marco, el propio consumidor ha adquirido conciencia sobre la necesidad de una producción sostenible y ha comenzado a dirigir sus preferencias hacia alimentos procedentes de estos sistemas. Prueba de todo lo mencionado es que la superficie destinada a producción ecológica en la UE ha pasado de 5 millones de ha en 2002 a 11 millones de ha en 2015 y cerca de 15 millones de ha en 2019 (European Commission, 2016; FiBL e

IFOAM Organics International, 2021). A este respecto, España es el país con mayor superficie de cultivo ecológico, con 2,36 millones de ha en 2019 - con un aumento de un 22.3% en solo dos años (de 2013 a 2015) y del 64% en la década 2010-2019 - seguida de Francia, Italia y Alemania con 2,24, 1,99 y 1,61 millones de ha (FiBL e IFOAM Organics International, 2021). Adicionalmente, en la Comunitat Valenciana, entre 2016 y 2020 se desarrolló el I Plan Valenciano de Producción Ecológica (Generalitat Valenciana, 2016) que ha permitido incrementos del 20% anual durante este periodo en la superficie de cultivo ecológico en nuestra Comunidad, la cual ha alcanzado 146.757 ha en 2020 (Generalitat Valenciana, 2021). El II Plan Valenciano de Producción Ecológica presenta varios retos, incluyendo promover una mayor y mejor agricultura ecológica permita hacer frente a la emergencia climática y contribuya a una alimentación saludable y sostenible (Generalitat Valenciana, 2021). No obstante, es de destacar que, entre todos los cultivos, la producción ecológica y de bajos insumos en especies de alto valor añadido, como los cultivos hortícolas, es menor que en cultivos extensivos. No obstante, la superficie de producción ecológica de hortalizas en España ha aumentado del 3,7% en 2016 a un 4,5% en 2020 (MAGRAMA, 2016; MAPA, 2020). Además de implementar unos sistemas de producción más sostenible, otro de los grandes retos a los que se enfrenta la agricultura mundial, y en concreto la horticultura, son las consecuencias derivadas del cambio climático, así como la aparición de nuevos patógenos que empiezan a cobrar importancia en el marco de sistemas sostenibles, con un uso limitado de fitosanitarios, y/o exacerbados por las nuevas condiciones del cambio climático (Challinor *et al.*, 2014; Aguilera *et al.*, 2020). Así, la intensificación de las pérdidas causadas por plagas y enfermedades es una de las consecuencias del cambio climático, al darse unas condiciones más ventajosas para las mismas (Pareek *et al.*, 2020; Malhi *et al.*, 2021). Como consecuencia de todo ello, los programas de fitomejoramiento no sólo deben dirigirse a la adaptación de los cultivos a condiciones de cultivo ecológico o de bajos insumos, sino también deben tener en cuenta la mejora de la resiliencia, con una alta tolerancia a estreses abióticos como la sequía, salinidad,

bajos niveles de nutrientes, resistencia o tolerancia a enfermedades, y una mayor eficiencia en la utilización del agua y de nutrientes, prestando especial atención en la forma en la que las variedades objeto de selección interactúan con el medio, en particular el sistema suelo-raíz y sus colonias microbióticas (Fita *et al.*, 2015; Pareek *et al.*, 2020).

### **1.7. Estrés biótico: Oídio, caracterización y dificultades para su estudio**

Entre los estreses bióticos que han tomado relevancia los últimos años para España, tenemos al oídio (*Leveillula taurica* Lev.), también conocido como cenicilla, mildiu polvoso u oidiopsis. Es un hongo biótrofo endosimbiótico obligado patógeno de plantas, perteneciente a la familia *Erysiphaceae*, que afecta el rendimiento de diferentes cultivos y la calidad de los frutos (Morales-Manzo *et al.*, 2018). La infección suele estar focalizada en el envés de las hojas, dando un aspecto “polvoso” o como “ceniza” común entre los hongos de esta familia. No tiene particular preferencia por algún hospedero, pudiendo infectar plantas tan diversas como de familias diferentes. Este amplio rango de huéspedes dificulta mucho su control y suele tratarse de forma preventiva con aplicaciones mensuales de fungicidas foliares o diferentes tipos de control biológico. Pero debido a su condición endosimbiótica, una vez infectada la planta, es muy difícil la erradicación. Particularmente, se desarrolla en condiciones de alta humedad y calor, ya sea en campo abierto o en formas de cultivo protegido como invernaderos para explotaciones intensivas. Adicionalmente, estas condiciones son cada vez más frecuentes por el cambio climático en zonas consideradas templadas contribuyendo a la expansión de su distribución.

La evaluación de materiales vegetales para conocer el tipo de interacción con este patógeno suele llevarse a cabo en condiciones de campo abierto, de “infección natural”, y con menos frecuencia en condiciones controladas en invernaderos de investigación, ya que mantener al patógeno implica serias dificultades debidas a su condición

endosimbiótica obligada, no puede sobrevivir fuera del hospedero vivo. Aunque se han planteado esfuerzos para su conservación en medio axénicos (Molot *et al.*, 1987; Morales-Manzo *et al.*, 2019), es difícil de esta manera alcanzar la cantidad de inóculo necesaria para llevar a cabo ensayos a gran escala.

Podríamos resumir la búsqueda de resistencias en tres enfoques: 1) La búsqueda de loci cuantitativos (*QTL*, por sus siglas en inglés) que se ha estudiado exhaustivamente desde inicios del siglo XXI (Lefbvre *et al.*, 2003); 2) La búsqueda de variantes recesivas del gen “locus O del mildiu”, originalmente identificado en la cebada (*Hordeum vulgare* L., Büschges *et al.*, 1995), han sido una opción de gran interés por la versatilidad que implica, si se encuentran, su introgresión a variedades comerciales (Zheng *et al.*, 2012); y 3), la búsqueda mediante cribados de nuevas y diferentes formas de resistencias o tolerancias, gracias a los cuales se ha identificado algunos genotipos de *C. annuum*, *C. annuum* var. *glabriusculum*, *C. baccatum* y *C. chinense* como resistentes o altamente tolerantes (Blat *et al.*, 2005, McCoy y Bosland, 2019, y Morales-Manzo *et al.*, 2021).

### **1.8. El suelo e interacciones: importancia, interacción cultivos-suelos y estudio integral**

El 2015 fue designado por la FAO el Año Internacional del Suelo, en el marco de la Alianza Mundial por el Suelo. Haciendo hincapié en la necesidad de incrementar la conciencia y comprensión de su importancia, particularmente para la seguridad alimentaria y los diferentes servicios ambientales que provee a la humanidad. En la “Carta Mundial del Suelo” abren con la siguiente sentencia: “Los suelos son fundamentales para la vida en la Tierra, pero las presiones humanas sobre los recursos del suelo están alcanzando límites críticos. La gestión cuidadosa del suelo es un elemento esencial de la agricultura sostenible y también proporciona una palanca valiosa para la regulación del clima y una vía para proteger los servicios del ecosistema y la biodiversidad.” (“*Soils are fundamental to life on Earth but human*

*pressures on soil resources are reaching critical limits. Careful soil management is one essential element of sustainable agriculture and also provides a valuable lever for climate regulation and a pathway for safeguarding ecosystem services and biodiversity*) (“World Soil Charter”, FAO e ITPS, 2015) y provee 9 principios que resumen el conocimiento actual sobre el suelo, el rol multifacético que tiene y las amenazas que tiene para continuar proveyendo estos servicios ambientales, de forma sintética:

-I. Los suelos son un recurso clave para el bienestar humano y ecosistémico. Es esencial mantener o mejorar los recursos del suelo para satisfacer las necesidades de seguridad alimentaria, hídrica y energética;

-II. Los suelos son diversos debido a las complejas interacciones en el tiempo y el espacio. Se debe comprender esta diversidad para fomentar un uso adecuado de la tierra y lograr la seguridad alimentaria;

-III. El manejo del suelo es sostenible si se mantienen o mejoran sus servicios sin afectar significativamente sus funciones o la biodiversidad. Es importante equilibrar los servicios para la producción vegetal con los servicios de regulación del agua y gases de efecto invernadero;

-IV. La implementación de decisiones sobre el manejo del suelo se realiza a nivel local en contextos socioeconómicos diferentes. Es importante incluir el conocimiento local e indígena en el desarrollo de medidas específicas;

-V. Las funciones del suelo están gobernadas por sus propiedades químicas, biológicas y físicas. Es esencial conocer el estado de estas propiedades y cómo cambian para lograr la sostenibilidad;

-VI. Los suelos son un reservorio clave de biodiversidad global. Esta biodiversidad tiene un papel fundamental en el apoyo a las funciones del suelo y, por lo tanto, a los bienes y servicios ecosistémicos asociados con los suelos;

-VII. Todos los suelos proporcionan servicios ecosistémicos relevantes para la regulación del clima global y la regulación del agua a múltiples escalas. Los impactos locales o regionales en el uso del terreno deben evaluarse en un contexto global;

-VIII. Minimizar o eliminar la degradación significativa del suelo es esencial para mantener los servicios proporcionados por todos los suelos y es sustancialmente más rentable que rehabilitarlos después de que haya ocurrido la degradación;

-IX. Los suelos que han experimentado degradación pueden recuperar sus funciones básicas y sus contribuciones a los servicios ecosistémicos mediante la aplicación de técnicas adecuadas. Esto aumenta el área disponible para la provisión de servicios sin necesidad de convertir el uso del terreno.

Una de las mayores amenazas para cuidar nuestro suelo, es la erosión del mismo, que podríamos definir como: "La eliminación acelerada de la capa superior del suelo de la superficie terrestre a través del agua, el viento o el arado" (FAO e ITPS, 2015). Como dice la definición propuesta, la erosión es la consecuencia de diferentes actores, pero en el contexto de tierras agrícolas son estos tres, el agua, el viento y el arado. En el primer caso, ocurre principalmente cuando el flujo superficial arrastra partículas de suelo desprendidas por el impacto de gotas o escorrentía. En el segundo, por viento ocurre cuando el suelo seco y suelto está expuesto a vientos fuertes. Y finalmente, por arado es el movimiento directo del suelo hacia debajo de la pendiente por los implementos de arado (FAO e ITPS, 2015).

Se estima que la erosión por agua anualmente transloca entre 23 y 42 megatoneladas (Mt,  $10^6$ ) de nitrógeno (N) y 14,6 y 26,4 Mt de fósforo (P) de las tierras agrícolas. Como consecuencia de este tipo de flujos, la remoción de nutrientes del suelo es mucho mayor que lo que puede recuperarse por medio de fertilización. Adicional a la pérdida de los nutrientes en el suelo agrícola, en este mismo sentido, hay que considerar el particular impacto que tiene para los cuerpos de agua subterráneos y superficiales la llegada de estos flujos altamente ricos en nutrientes, provocando el crecimiento descontrolado de microorganismos como las algas llevando a procesos de eutrofización que acaban con el resto de las formas de vida acuática (FAO e ITPS, 2015). Las tasas totales de erosión por viento son altamente inciertas. Se estima que el límite superior de la movilización de polvo por erosión eólica en tierras cultivables es de

aproximadamente 2 gigan toneladas (Gt,  $10^9$  t) al año (estimaciones de 2015). Sin embargo, el viento no solo moviliza polvo sino también partículas más gruesas del suelo (arena), lo que implica tasas de erosión eólica mucho más altas. Un gran número de estudios han realizado estimaciones globales de la erosión eólica y el transporte de polvo. Aproximadamente el 75% de las emisiones de polvo provienen de fuentes naturales y el 25% restante se atribuye a fuentes antropogénicas (Ginoux *et al.*, 2012). Las tasas de erosión en tierras cultivadas en áreas tropicales y subtropicales pueden alcanzar valores de hasta 50-100 toneladas por hectárea por año. Sin embargo, las tasas promedio son más bajas y a menudo son de 10-20 toneladas por hectárea por año. Estas altas tasas se deben a la combinación de un clima erosivo y pendientes más pronunciadas que en las tierras cultivadas en zonas templadas. Las tierras de pastoreo y pastizales en áreas tropicales y subtropicales pueden sufrir tasas de erosión similares a las de los cultivos tropicales. La redistribución del suelo dentro de los campos debido a la labranza puede llevar a tasas de erosión muy altas en convexidades (lomas) que superan las 30 toneladas por hectárea por año y a tasas de deposición en huecos y en los bordes de los campos que superan las 100 toneladas por hectárea por año. Estas tasas no son directamente comparables con las tasas de erosión por viento o agua ya que el suelo erosionado por la labranza no abandonará el campo. Sin embargo, la erosión por labranza puede reducir significativamente la productividad de los cultivos en convexidades y cerca de los bordes del campo o terraza (FAO e ITPS, 2015). Adicional a los efectos de la erosión sobre el suelo por labranza, esta práctica agrícola impacta también la biodiversidad de microorganismos del suelo, en particular el uso herramientas que actúan a mayor profundidad (Cookson *et al.*, 2008), disminuyendo la biomasa microbiana, situación diferente con métodos de “no labranza” o labranza superficial. Además, la explotación agraria sin llevar a cabo rotaciones de cultivos de forma correcta o dar temporadas de “descanso” al suelo, selecciona de forma indirecta la mayor presencia de patógenos. Esto invariablemente lleva al uso incrementado de pesticidas o incluso de técnicas de “desinfección” como la inyección de vapor caliente

(más común a mediados del siglo XX) o posteriormente mediante solarización acompañada de la aplicación de pesticidas (Abu- Irmaileh, 2004). Este tipo de procedimientos tienen un alcance limitado y son de una gran agresividad para el suelo y su biodiversidad, sin mencionar los impactos en la salud humana. Otra estrategia utilizada a la par de estos procedimientos es el uso de variedades genéticamente resistentes. Ambas técnicas tienen limitaciones tanto legales, como económicas y más aún cuando los patógenos generan tolerancias a los pesticidas o encuentran formas de evadir las resistencias genéticas de los hospederos. Sin duda esta visión en la que es un conflicto entre “individuos”, hospedero *vs* patógeno, les aísla del resto de agentes presentes en todas las interacciones que ocurren en un medio tan rico como el suelo. En una perspectiva diferente, Cook *et al.* (1995), reportaba la capacidad de algunas plantas, en su caso particular de alguna variedad de trigo (*Triticum sp. L.*), donde se daba el fenómeno de “supresión inducida” en el que, debido a cambios en las comunidades bacterianas, eran estas comunidades quienes controlaban o desplazaban completamente al hongo patógeno *Gaeumannomyces graminis var. tritici* tanto en el suelo, como en heridas en las raíces de las plantas. Estos cambios en la comunidad microbiana se daban por las plantas de trigo. Podemos conceptualizar a los suelos supresores de enfermedades como: “suelos en los cuales el patógeno no se establece o persiste, se establece pero causa poco o ningún daño, o se establece y causa enfermedad por un tiempo pero luego la enfermedad es menos importante, aunque el patógeno puede persistir en el suelo.” (Baker y Cook, 1974). Se han reportado suelos supresores de enfermedades tales como las provocadas por *Fusarium oxysporum* Schltdl., *Aphanomyces euteiches* D., *Heterodera avenae* Wollenweber, *H. schachtii* A. Schmidt, *Meloidogyne spp.* Göldi, *Criconemella xenoplax* Raski, *Thielaviopsis basicola* Berk. & Broome, *Phytophthora cinnamomi* Rands, *Phytophthora infestans* Mont., *Pythium splendens* Hans Braun, *Pythium ultimum* Trow, *Rhizoctonia solani* J.G. Kühn, *Streptomyces scabies* Lambert & Loria, *Plasmodiophora brassicae* Woronin, y *Ralstonia solanacearum* Smith (Weller *et al.*, 2002). Aunque está reportado que los aportes de

materia orgánica, ciertas prácticas agrícolas o la restitución de la fertilidad del suelo pueden incrementar la supresión general (Rovira y Wildermuth, 1981), se considera que esta capacidad es indiferente a la presencia de cultivos y es más bien producto de prácticas en su conjunto a largo plazo. En cambio, lo que llamaríamos supresión inducida es iniciada y sostenida durante la presencia del cultivo y producto de varios ciclos de cultivo de variedades identificadas con la capacidad supresora de enfermedades (Weller *et al.*, 2002).

Por ello, es que un enfoque que sea capaz de abarcar interacciones tan complejas es necesario. Hoy en día las nuevas tecnologías de secuenciación nos permiten conocer no solo la identidad de los integrantes de estos complejos sistemas, sino el genoma de la comunidad (metagenómica) que incluye todos los genes de los integrantes de la comunidad y sus funciones (metatranscriptómica funcional), permitiendo así conocer las poblaciones microbianas donde ocurre este fenómeno y también identificar consorcios nativos de ciertas regiones o suelos (Mazzola y Freilich, 2017) que suelen tener mayor actividad contra patógenos que los consorcios introducidos o sintéticos (Cook *et al.*, 1995). De esta manera es que es posible empezar a entender la red de interacciones entre el cultivo y los diferentes metabolitos (*e.g.*, flavonoides o ácidos orgánicos) exudados por sus raíces, particularmente en heridas, y las comunidades microbianas que de esta manera es capaz, o no, de reclutar (Cook *et al.*, 1995, Ofaim *et al.*, 2017, Berihu *et al.*, 2023).

Tras todo lo expuesto, queda patente la necesidad de abordar la mejora de los cultivos, en particular del pimiento, más allá de los objetivos de mejora tradicionales e incluir las interacciones con una perspectiva holística. Dicho de otra manera, los programas de mejora deberían diseñarse en torno al holobionte, resultando no solo en un cultivo mejorado, sino ecosistemas completos. Dentro de los humildes alcances que puede tener un plan de investigación doctoral, hemos establecido los siguientes objetivos para aportar a esta perspectiva algunas luces dentro de la mejora del pimiento:

## 2. Objetivos

Como ya se ha introducido antes, para responder a estas necesidades se han establecido los siguientes objetivos para la mejora del pimiento:

**Objetivo principal.** Mejora del pimiento (*Capsicum spp.*) desde una perspectiva holística para su aprovechamiento dentro de una agricultura más sostenible:

**Objetivo específico 1.** Identificar dentro de una amplia variedad de accesiones de *Capsicum spp.*, posibles nuevas fuentes de tolerancia o resistencia a oídio (*L. taurica*).

Este objetivo se desarrolla en el capítulo 1 de la presente tesis.

**Objetivo específico 2.** Caracterizar la interacción de diversos genotipos de *Capsicum spp.* con la rizosfera en diferentes manejos de cultivo. Actividad enzimática, actividad respiratoria y microbioma.

Este objetivo se desarrolla en los capítulos 2 y 3.



### 3. Capítulo 1: Estudio de la respuesta al oídio (*Leveillula taurica*) en chiles y pimientos



### 3.1. Introducción

Los pimientos (*Capsicum spp.*) es uno de los cultivos hortícolas más importantes cultivados en todo el mundo y adaptados a una variedad de condiciones de cultivo, utilizados tanto frescos como procesados (FAOSTAT, 2021). Siendo un cultivo ampliamente difundido, está amenazado por diferentes patógenos. El oídio (*Leveillula taurica* (Lév.) Arn.) es uno de ellos, principalmente en ambientes frescos y húmedos, como invernaderos y campos abiertos en latitudes medias durante las estaciones de otoño e invierno (Parisi *et al.*, 2020). La infección de este hongo endoparásito obligado biótrofo comienza cuando las conidias (esporas asexuales) transportadas por el aire aterrizan en la superficie de la hoja, germinan y la hifa entra por los estomas u otra abertura, desarrollando su micelio dentro del mesófilo de las hojas (Zheng *et al.*, 2013). Los primeros síntomas son manchas cloróticas amarillas en las hojas más viejas. Posteriormente, el desarrollo de los conidióforos en el envés de las hojas (cara inferior) provoca el característico polvo blanco de esta enfermedad. Se produce la caída prematura de las hojas (o abscisión foliar), afectando la producción al disminuir la fotosíntesis y exponer los frutos a la insolación (Molot *et al.*, 1990).

La naturaleza biotrófica del hongo requiere mantener plantas infectadas como fuente de inóculo y limita la evaluación de accesiones para resistencia (Daubeze *et al.*, 1995, Lefebvre *et al.*, 2003, Blat *et al.*, 2005 y 2006). La evaluación generalmente se realiza en cultivos a campo abierto en la etapa de fructificación, pero también se puede realizar bajo condiciones controladas (invernaderos o cámaras de crecimiento) durante las primeras etapas de la planta, donde la inoculación de las accesiones se realiza desde que cuenta con 3-4 hojas verdaderas hasta la etapa de fructificación (de Souza y Café-Filho, 2003, Zheng *et al.*, 2013). La respuesta en las primeras etapas puede diferir de las plantas adultas. Por ejemplo, algunas accesiones comerciales de *C. annuum* han mostrado mejores respuestas contra la infección en plantas jóvenes (de Souza y Café-Filho, 2003). Tres técnicas principales de inoculación se utilizan comúnmente: i)

infección natural, ii) inoculación artificial mediante cepillado directo de conidias en las hojas, iii) pulverización de conidias en suspensión de concentración variable ( $105 - 2,5 \times 10^4 \text{ ml}^{-1}$ ) con TritonX 100  $1 \mu\text{l ml}^{-1}$  (Molot *et al.*, 1990, Daubeze *et al.*, 1995, Zheng *et al.*, 2013, Albert *et al.*, 2017, Özer *et al.*, 2018, McCoy y Bosland, 2019). Los cribados controlados se han realizado utilizando una amplia gama de temperaturas (16-27 °C, Molot *et al.*, 1987, Zheng *et al.*, 2013), humedad (30-70%  $\pm$  15 HR, Bai *et al.*, 2003, Zheng *et al.*, 2012) y fotoperíodo (12-14 h luz y 12-10 h oscuridad, Molot *et al.*, 1987; Özer *et al.*, 2018). Para evaluar adecuadamente la respuesta a la infección, algunos autores han propuesto un sistema de puntuación semicuantitativo o variantes (Molot *et al.*, 1987). Dicha metodología clasifica las plantas utilizando una escala del 0 al 5, donde 0 = planta sana (es decir, sin hojas infestadas) y 5 = 80-100% del follaje de la planta infestada. Daubeze *et al.* (1995) utilizaron un sistema de puntuación similar llamado intensidad de esporulación (*Sp*, escala de 0-5), pero también evaluaron la proporción de área foliar enferma por planta (*Pr*, escala de 0-5) utilizando una escala semicuantitativa.

Aunque se han informado algunas fuentes de tolerancia al oídio en los pimientos, no se ha encontrado ninguna resistencia completa. Una de las primeras y más resistentes accesiones de *C. annuum* identificados fue *H3* (un acceso etíope resistente al oídio y picante de frutos pequeños) y *HV-12*, una accesión obtenida como haplodiploide de los híbridos de *H3* y cv. '*Vania*' (Daubeze *et al.*, 1995, de Souza y Café-Filho, 2003, Zheng *et al.*, 2013). Se han encontrado altas tolerancias en otras especies de *Capsicum* como *C. baccatum*, *C. chinense*, *C. frutescens* y *C. pubescens* (Lee *et al.*, 2001, de Souza y Café-Filho, 2003, Blat *et al.*, 2005 y 2006). A pesar de que *C. chinense* y *C. frutescens* están agrupados dentro del complejo botánico de *C. annuum*, se ha informado de incompatibilidad sexual (tanto pre como postzigótica) en muchas ocasiones, dependiendo de la accesión (Manzur *et al.*, 2015). Por lo tanto, la introgresión de genes de otras especies en *C. annuum* es limitada. Recientemente, McCoy y Bosland (2019) evaluaron 152 accesiones de *Capsicum spp.* bajo condiciones de infección natural (no

controladas) en campos de Nuevo México. Identificaron putativamente varias accesiones de *C. annuum* y una accesión de chiltepín (*C. annuum* var. *glabriusculum*), abriendo la posibilidad de encontrar genes de resistencia en *C. annuum*. En este sentido, aún no se han realizado ensayos para la resistencia al oídio con suficientes accesiones de *C. annuum* var. *glabriusculum*, una forma silvestre y semisilvestre de pimiento, que se ha descrito como un ancestro cercano de *C. annuum* (Aguilar-Meléndez *et al.*, 2009, Kraft *et al.*, 2013, Hayano-Kanashiro *et al.*, 2016, Pereira *et al.*, 2019). Varias poblaciones de pimientos silvestres y semisilvestres se distribuyen naturalmente en México (Luna-Ruiz *et al.*, 2018), y Kraft *et al.* (2013) reunieron una colección de pimientos silvestres y semisilvestres de México y el sur de EE. UU., que pueden ser buenos candidatos para explorar fuentes adicionales de resistencia al oídio. El objetivo del presente trabajo fue examinar, en condiciones controladas, una amplia variedad de accesiones de *Capsicum spp.*, incluyendo *C. annuum* var. *glabriusculum*, para identificar posibles nuevas fuentes de tolerancia o resistencia al oídio.

## 3.2. Materiales y métodos

### 3.2.1. Material vegetal y ensayo de infección.

Se evaluaron 49 accesiones de cinco taxa diferentes de *Capsicum* (22 *C. annuum*, incluyendo algunos cultivares comerciales, 5 *C. annuum* var. *glabriusculum*, 13 *C. baccatum*, 6 *C. chinense*, 1 *C. frutescens* y 2 *C. pubescens*) en dos ensayos diferentes (Tabla 5). En cada ensayo se incluyeron como controles tres accesiones comerciales conocidas por su buena respuesta contra el oídio en condiciones de campo (*C. annuum*: Co-<sup>\*\*</sup>). Además, en el segundo ensayo se reevaluaron cuatro accesiones seleccionadas del primer ensayo para confirmar su respuesta contra el oídio.

Tabla 5. Material vegetal utilizado con nombres de accesiones, código identificador de las accesiones, origen y número de replicas por ensayo.

Accesión	Código	Origen	No. de replicas	
			primer	segundo
<i>Capsicum annuum</i>				
Ací Sivri	A-09	Turquia	-	5
Acorde RZ F <sub>1</sub> (53-142)	Co-01	Rijk Zwaan, España	20	5
Ancho 101	A-10	México/EE. UU.	-	5
Ancho Mulato	A-17	México/EE. UU.	-	5
Bola	A-01	Murcia, España	5	-
California Wonder (r)	A-23	Línea de mejora COMAV, Valencia, España	-	5
California Wonder (a)	A-02	Línea de mejora COMAV, Valencia, España	5	-
Carmagnola Rosso	A-12	Carmagnola, Italia	-	5
Chile Serrano 204D	A-03	México/EE. UU.	5	-
Chile Serrano	A-04	México/EE. UU.	5	-
Jalapeño Candelaria	A-13	México/EE. UU.	-	5
Jalapeño Espinalteco 10397	A-21	México/EE. UU.	-	5
Jalapeño M.	A-18	México/EE. UU.	-	5
Kabuki F <sub>1</sub> (BF50820)	Co-02	Syngenta, España	20	5
Largo de Reus	A-05	Mascarell Seed Co., España	5	-
Largo Valenciano	A-14	Alicante, España	-	5
Mojo Palmero	A-22	La Palma, España	-	5
Nirvin RZ F <sub>1</sub> (35-150)	Co-03	Rijk Zwaan, España	10	5
Pasilla Bajío	A-06	México/EE. UU.	5	-
Pimiento Valenciano	A-16	Valencia, España	-	5
Piquillo	A-07	Navarra, España	5	-
Serrano Criollo Morelos	A-08	Morelos, México	5	-

*C. annuum* var. *glabriusculum*

Arizona 1003	Ag-01	Arizona, USA	5	5
Chiapas 1333	Ag-03	Chiapas, México	-	5
Nayarit 1411	Ag-04	Nayarit, México	-	5
Oaxaca 1430	Ag-02	Oaxaca, México	5	5
Veracruz 1196	Ag-06	Veracruz, México	-	5

*C. baccatum*

Bol – 103	B-04	Santa Cruz, Bolivia	5	-
Bol – 104	B-05	Santa Cruz, Bolivia	5	-
Bol – 106	B-11	Santa Cruz, Bolivia	-	5
Bol – 108	B-12	Santa Cruz, Bolivia	-	5
Bol – 111	B-13	Santa Cruz, Bolivia	-	5
Bol – 115	B-14	Santa Cruz, Bolivia	-	5
Bol – 117	B-07	Santa Cruz, Bolivia	5	-
Bol – 120	B-15	Santa Cruz, Bolivia	-	5
Bol – 134	B-01	Santa Cruz, Bolivia	5	-
Bol – 37R	B-03	Chuquisaca, Bolivia	5	-
Asta de Toro	B-02	Cochabamba, Bolivia	5	-
Bol – 67	B-09	Cochabamba, Bolivia	5	-
Bol – 71	B-10	Santa Cruz, Bolivia	5	5

*C. chinense*

Aji dulce	C-01	Venezuela	5	-
Bol – 198	C-02	Santa Cruz, Bolivia	5	5
Ají Charapita	C-03	Amazonia, Perú	5	-
ECU-994	C-04	Ecuador	5	-
Habanero Rojo	C-06	Pennsylvania, EE. UU.	-	5
Ají Mochero	C-05	Valle de Moche, Perú	5	-

<i>C. frutescens</i>				
Bol – 144	F-01	Santa Cruz, Bolivia	5	-
<i>C. pubescens</i>				
Bol – 188	P-01	Chuquisaca, Bolivia	-	5
Bol – 59	P-02	Cochabamba, Bolivia	-	5

Las semillas se sembraron en bandejas y un mes después, las plántulas se trasplantaron a macetas de 7,5 × 7,5 cm. Una semana después del trasplante, las plantas se decapitaron para dejar solo tres o cuatro hojas basales (Figura 8A). Luego, se colocaron en miniinvernaderos en un diseño de bloques al azar (Figura 8B). Los miniinvernaderos se colocaron en cámaras climáticas con una temperatura promedio de 21 °C ± 2 y una humedad relativa del 80% ± 5 (Bai *et al.*, 2003, Zheng *et al.*, 2012).



Figura 8. Configuración del experimento; (A) plantas de pimiento de 30 días de edad recién decapitadas listas para ser inoculadas; (B) miniinvernadero usado para evitar la propagación del patógeno fuera de él.

Las plantas fueron inoculadas y posteriormente reinoculadas tres veces (a los 7, 14 y 21 días después de la primera inoculación) mediante la pulverización de la parte abaxial de las hojas con una suspensión acuosa de 104 conidias ml<sup>-1</sup> (concentración máxima obtenida). El inóculo de *L. taurica* se obtuvo de hojas infectadas de pimientos cultivados en campos comerciales y se mantuvo in vivo en materiales susceptibles bajo

condiciones controladas. Las plantas se evaluaron 30 y 60 días después de la primera inoculación (DDI).

### 3.2.2. Evaluación de la respuesta.

Debido a la amplia gama de especies de *Capsicum* evaluadas y para superar posibles sesgos, se utilizó un Índice de Infección Compuesto (IIC) basado en Daubeze *et al.* (1995). Se registraron el número total de hojas (TH) y el número total de hojas afectadas (HA) que mostraban manchas cloróticas en cada fecha de evaluación. Además, se calculó una proporción  $HA TH^{-1}$ , similar a "la intensidad de esporulación" de Daubeze *et al.* (1995). También se consideró el área afectada en la hoja más dañada, llamada área máxima afectada (AMA), similar a la "superficie de hoja por planta" de Daubeze *et al.* (1995). La AMA se registró visualmente mediante la puntuación de la proporción de superficie de la hoja cubierta por manchas cloróticas o de esporulación (se utilizó de 0.00 a 1.00, donde el 10% de la superficie de manchas cloróticas-esporuladas era 0,10, el 20% = 0,20 ... y el 100% = 1,00). Nuestro propuesto IIC (en una escala de 0,00-1,00) se calculó de la siguiente manera:

$$IIC = \frac{\left(\frac{HA}{TH}\right) + AMA}{2} \quad (1)$$

### 3.2.3. Análisis estadístico

En ambos ensayos se evaluaron cinco plantas por accesión, excepto las accesiones comerciales durante el primer ensayo (10 a 20 plantas). Se realizó un análisis de varianza factorial de dos vías (ANOVA,  $P < 0,05$ ) utilizando los valores-n individuales de cada planta para evaluar los efectos de la accesión y del bloque (miniinvernaderos) (Hoshmand, 2020). Además, se utilizó la prueba de rango múltiple *post-hoc* de Student-Newman-Keuls ( $P < 0,05$ ) para detectar diferencias significativas entre las medias de las accesiones para todas las características evaluadas. Los datos se estandarizaron mediante puntajes-Z para comparar dentro y entre ensayos. Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando Statgraphics Centurion XVIII (ver.

18.1.13, Statgraphics Technologies, VA, USA). Tablas suplementarias en el repositorio [https://github.com/ivaletia/pepper\\_resistance\\_powdery\\_mildiu](https://github.com/ivaletia/pepper_resistance_powdery_mildiu)

### 3.3. Resultados

#### 3.3.1. Primera selección:

La infección del primer ensayo produjo el daño característico del mildiú polvoriento en las plantas. Al evaluar el rendimiento de las 27 accesiones probadas en este ensayo, el ANOVA mostró diferencias significativas entre ellas para todas las características evaluadas ( $P < 0,001$ , Tabla suplementaria 1 en el repositorio). Como las plantas se organizaron en un diseño de bloques al azar, se investigó la posible influencia del bloque. Además, el efecto de bloque contribuyó significativamente a la variación (Tabla suplementaria 1 en el repositorio). Esta circunstancia se consideró en el análisis *post-hoc*. La intensidad de la infección fue mayor a los 30 que a los 60 DDI (Tabla 6). La relación media de HA TH<sup>-1</sup> fue de 0,32 a los 30 DDI y disminuyó a 0,18 a los 60 DDI; el AMA promedio fue de 0,18 a los 30 DDI y 0,23 a los 60 DDI; el IIC promedio fue de 0,25 a los 30 DDI y 0,20 a los 60 DDI.

Tabla 6. Valores promedio del primer ensayo para el número total de hojas (TH), hojas afectadas (HA), proporción HA/TH, área máxima afectada (AMA) y índice de infección compuesto (ICI) a los 30 y 60 días después de la inoculación (DDI)

	TH		HA		HA/TH		AMA		IIC	
	30 DDI	60 DDI	30 DDI	60 DDI	30 DDI	60 DDI	30 DDI	60 DDI	30 DDI	60 DDI
<i>Capsicum annuum</i>										
A-01	12,02 <sup>ABCD</sup>	21,03 <sup>ABCDE</sup>	3,40 <sup>ABC</sup>	3,47 <sup>AB</sup>	0,30 <sup>ABC</sup>	0,17 <sup>A</sup>	0,13 <sup>AB</sup>	0,21 <sup>A</sup>	0,22 <sup>ABCD</sup>	0,19 <sup>A</sup>
A-02	9,12 <sup>AB</sup>	14,91 <sup>AB</sup>	4,28 <sup>ABC</sup>	3,29 <sup>AB</sup>	0,56 <sup>C</sup>	0,22 <sup>A</sup>	0,30 <sup>BC</sup>	0,21 <sup>A</sup>	0,43 <sup>D</sup>	0,21 <sup>A</sup>
A-03	12,64 <sup>ABCDE</sup>	23,30 <sup>ABCDEF</sup>	3,54 <sup>ABC</sup>	4,30 <sup>AB</sup>	0,29 <sup>ABC</sup>	0,17 <sup>A</sup>	0,18 <sup>AB</sup>	0,41 <sup>A</sup>	0,23 <sup>ABCD</sup>	0,29 <sup>A</sup>
A-04	16,56 <sup>CDEFG</sup>	40,10 <sup>G</sup>	6,46 <sup>CD</sup>	3,70 <sup>AB</sup>	0,45 <sup>ABC</sup>	0,11 <sup>A</sup>	0,42 <sup>C</sup>	0,17 <sup>A</sup>	0,44 <sup>D</sup>	0,14 <sup>A</sup>
A-05	9,52 <sup>AB</sup>	16,23 <sup>ABC</sup>	3,19 <sup>ABC</sup>	3,22 <sup>AB</sup>	0,33 <sup>ABC</sup>	0,19 <sup>A</sup>	0,11 <sup>AB</sup>	0,36 <sup>A</sup>	0,22 <sup>ABCD</sup>	0,27 <sup>A</sup>
A-06	13,68 <sup>ABCDEF</sup>	21,77 <sup>ABCDEF</sup>	2,41 <sup>ABC</sup>	2,58 <sup>A</sup>	0,19 <sup>ABC</sup>	0,11 <sup>A</sup>	0,13 <sup>AB</sup>	0,12 <sup>A</sup>	0,16 <sup>ABCD</sup>	0,12 <sup>A</sup>
A-07	9,17 <sup>AB</sup>	13,71 <sup>A</sup>	2,84 <sup>ABC</sup>	2,71 <sup>A</sup>	0,30 <sup>ABC</sup>	0,18 <sup>A</sup>	0,11 <sup>AB</sup>	0,34 <sup>A</sup>	0,20 <sup>ABCD</sup>	0,26 <sup>A</sup>

A-08	17,43 <sub>DEFG</sub>	35,49 <sub>EFG</sub>	8,16 <sub>D</sub>	2,29 <sub>A</sub>	0,51 <sub>BC</sub>	0,10 <sub>A</sub>	0,25 <sub>ABC</sub>	0,10 <sub>A</sub>	0,38 <sub>D</sub>	0,10 <sub>A</sub>
Co-01	9,00 <sub>AB</sub>	15,85 <sub>ABC</sub>	2,95 <sub>ABC</sub>	3,25 <sub>AB</sub>	0,35 <sub>ABC</sub>	0,20 <sub>A</sub>	0,15 <sub>AB</sub>	0,24 <sub>A</sub>	0,25 <sub>ABCD</sub>	0,22 <sub>A</sub>
Co-02	7,85 <sub>A</sub>	13,95 <sub>A</sub>	3,40 <sub>ABC</sub>	3,25 <sub>AB</sub>	0,45 <sub>ABC</sub>	0,25 <sub>A</sub>	0,14 <sub>AB</sub>	0,18 <sub>A</sub>	0,30 <sub>ABCD</sub>	0,21 <sub>A</sub>
Co-03	9,20 <sub>AB</sub>	14,70 <sub>AB</sub>	3,10 <sub>ABC</sub>	3,60 <sub>AB</sub>	0,35 <sub>ABC</sub>	0,27 <sub>A</sub>	0,27 <sub>ABC</sub>	0,21 <sub>A</sub>	0,31 <sub>ABCD</sub>	0,24 <sub>A</sub>

***C. annuum var. glabriusculum***

Ag-01	14,92 <sub>BCDEFG</sub>	30,01 <sub>CDEFG</sub>	0,36 <sub>A</sub>	2,50 <sub>A</sub>	0,07 <sub>A</sub>	0,05 <sub>A</sub>	0,04 <sub>A</sub>	0,13 <sub>A</sub>	0,05 <sub>A</sub>	0,09 <sub>A</sub>
Ag-02	19,08 <sub>FG</sub>	36,59 <sub>FG</sub>	2,64 <sub>ABC</sub>	5,50 <sub>AB</sub>	0,10 <sub>AB</sub>	0,19 <sub>A</sub>	0,08 <sub>AB</sub>	0,17 <sub>A</sub>	0,09 <sub>ABC</sub>	0,18 <sub>A</sub>

***C. baccatum***

B-01	12,56 <sub>ABCDE</sub>	22,84 <sub>ABCDEF</sub>	5,73 <sub>BCD</sub>	4,24 <sub>AB</sub>	0,53 <sub>C</sub>	0,18 <sub>A</sub>	0,22 <sub>ABC</sub>	0,11 <sub>A</sub>	0,37 <sub>D</sub>	0,14 <sub>A</sub>
B-02	16,64 <sub>CDEFG</sub>	36,56 <sub>FG</sub>	2,67 <sub>ABC</sub>	4,96 <sub>AB</sub>	0,17 <sub>ABC</sub>	0,20 <sub>A</sub>	0,16 <sub>AB</sub>	0,29 <sub>A</sub>	0,17 <sub>ABCD</sub>	0,24 <sub>A</sub>
B-03	13,92 <sub>ABCDEF</sub>	24,09 <sub>ABCDEF</sub>	5,66 <sub>BCD</sub>	2,91 <sub>A</sub>	0,38 <sub>ABC</sub>	0,12 <sub>A</sub>	0,28 <sub>ABC</sub>	0,16 <sub>A</sub>	0,33 <sub>BCD</sub>	0,14 <sub>A</sub>
B-04	18,28 <sub>DEFG</sub>	30,91 <sub>DEFG</sub>	3,54 <sub>ABC</sub>	4,49 <sub>AB</sub>	0,21 <sub>ABC</sub>	0,29 <sub>A</sub>	0,16 <sub>AB</sub>	0,26 <sub>A</sub>	0,18 <sub>ABCD</sub>	0,27 <sub>A</sub>
B-05	10,84 <sub>ABC</sub>	25,65 <sub>ABCDEFG</sub>	3,16 <sub>ABC</sub>	3,27 <sub>AB</sub>	0,37 <sub>ABC</sub>	0,14 <sub>A</sub>	0,26 <sub>ABC</sub>	0,17 <sub>A</sub>	0,32 <sub>ABCD</sub>	0,16 <sub>A</sub>
B-07	16,83 <sub>CDEFG</sub>	32,06 <sub>DEFG</sub>	5,27 <sub>BCD</sub>	5,93 <sub>AB</sub>	0,34 <sub>ABC</sub>	0,19 <sub>A</sub>	0,16 <sub>AB</sub>	0,39 <sub>A</sub>	0,25 <sub>ABCD</sub>	0,29 <sub>A</sub>
B-09	14,48 <sub>BCDEFG</sub>	34,74 <sub>DEFG</sub>	3,76 <sub>ABC</sub>	4,58 <sub>AB</sub>	0,29 <sub>ABC</sub>	0,12 <sub>A</sub>	0,21 <sub>ABC</sub>	0,25 <sub>A</sub>	0,25 <sub>ABCD</sub>	0,19 <sub>A</sub>
B-10	10,12 <sub>AB</sub>	19,86 <sub>ABCD</sub>	4,44 <sub>ABC</sub>	4,62 <sub>AB</sub>	0,48 <sub>ABC</sub>	0,25 <sub>A</sub>	0,21 <sub>AB</sub>	0,37 <sub>A</sub>	0,34 <sub>CD</sub>	0,31 <sub>A</sub>

***C. chinense***

C-01	12,85 <sub>ABCDEF</sub>	25,08 <sub>ABCDEF</sub>	2,64 <sub>ABC</sub>	3,58 <sub>AB</sub>	0,20 <sub>ABC</sub>	0,15 <sub>A</sub>	0,14 <sub>AB</sub>	0,22 <sub>A</sub>	0,17 <sub>ABCD</sub>	0,18 <sub>A</sub>
C-02	13,35 <sub>ABCDEF</sub>	12,72 <sub>A</sub>	3,36 <sub>ABC</sub>	4,02 <sub>AB</sub>	0,26 <sub>ABC</sub>	0,29 <sub>A</sub>	0,12 <sub>AB</sub>	0,22 <sub>A</sub>	0,19 <sub>ABCD</sub>	0,25 <sub>A</sub>
C-03	20,38 <sub>G</sub>	35,39 <sub>EFG</sub>	8,40 <sub>D</sub>	7,43 <sub>B</sub>	0,41 <sub>ABC</sub>	0,20 <sub>A</sub>	0,20 <sub>AB</sub>	0,27 <sub>A</sub>	0,30 <sub>ABCD</sub>	0,24 <sub>A</sub>
C-04	16,48 <sub>CDEFG</sub>	28,88 <sub>BCDEFG</sub>	4,12 <sub>ABC</sub>	5,22 <sub>AB</sub>	0,31 <sub>ABC</sub>	0,17 <sub>A</sub>	0,14 <sub>AB</sub>	0,17 <sub>A</sub>	0,23 <sub>ABCD</sub>	0,17 <sub>A</sub>
C-05	17,14 <sub>CDEFG</sub>	29,80 <sub>CDEFG</sub>	1,86 <sub>AB</sub>	4,86 <sub>AB</sub>	0,08 <sub>A</sub>	0,20 <sub>A</sub>	0,04 <sub>A</sub>	0,19 <sub>A</sub>	0,06 <sub>AB</sub>	0,19 <sub>A</sub>

***C. frutescens***

F-01	18,79 <sub>EFG</sub>	31,28 <sub>DEFG</sub>	3,91 <sub>ABC</sub>	5,74 <sub>AB</sub>	0,24 <sub>ABC</sub>	0,17 <sub>A</sub>	0,14 <sub>AB</sub>	0,27 <sub>A</sub>	0,19 <sub>ABCD</sub>	0,22 <sub>A</sub>
------	----------------------	-----------------------	---------------------	--------------------	---------------------	-------------------	--------------------	-------------------	----------------------	-------------------

Media 13,81 25,46 3,90 4,06 0,32 0,18 0,18 0,23 0,25 0,20

\*Valores promedio con diferentes letras dentro de las columnas (ABCDEF) son significativos de acuerdo con el test de rangos múltiples de Student-Newman-Keuls con un p-valor <0.05.

A los 30 DDI, los valores medios del número total de hojas (TH) variaron de 7,85 (Co-02) a 20,38 (C-03), y las accesiones se separaron significativamente en diferentes

grupos, siendo Co-02, Co-01, A-02, A-07, Co-03, A-05 y B-10 los que presentaron el menor número de hojas, mientras que A-08, B-04, F-01, Ag-02 y C-03 mostraron el mayor número (Tabla 6). El número promedio de hojas afectadas (HA) osciló entre 0,36 (Ag-01) y 8,40 (C-03), y la accesión Ag-01 difirió significativamente de las seis accesiones más afectadas (es decir, B-07, B-03, B-01, A-04, A-08 y C-03). Para la relación de hojas afectadas, los valores medios oscilaron entre 0,07 (Ag-01) y 0,56 (A-02) y Ag-01 y C-05 difirieron significativamente de las últimas tres accesiones (A-08, B-01 y A-02).

Para la AMA, los valores medios variaron desde 0,04 (Ag-01) hasta 0,42 (A-04), aunque solo Ag-01 y C-05 difirieron significativamente de las dos peores accesiones, A-02 y A-04. En el caso del índice de infección compuesto (IIC), los valores medios oscilaron desde 0,05 (Ag-01) como el más tolerante, hasta 0,44 (A-04), como el más susceptible. En este sentido, la prueba estadística separa claramente a Ag-01 y C-05 de las cinco peores accesiones (B-10, B-01, A-08, A-02 y A-04) (Tabla 6).

A los 60 días después de la inoculación, el análisis de varianza detectó diferencias significativas entre accesiones en la mayoría de los caracteres, particularmente en TH y HA (Tabla suplementaria 2 en el repositorio). En TH, las accesiones se agruparon significativamente como fue a los 30 DDI y, por lo tanto, las accesiones con el mayor número de hojas a los 30 DDI también tuvieron un alto número de hojas a los 60 días (Tabla 6). En cambio, esto no fue así para el resto de los parámetros, lo que indica que la evolución de estos caracteres desde los 30 a los 60 días fue diferente entre las accesiones. Así, algunas accesiones como A-06, Ag-01 y Ag-02 evolucionaron con valores muy bajos de HA, proporción  $HA TH^{-1}$ , AMA e IIC, mientras que C-02 mostró valores moderados en ambos periodos de tiempo, y C-03 y B-10 continuaron con valores altos de la enfermedad (Tabla 6). Por el contrario, algunas accesiones como A-08, B-01, B-03, A-04, B-05, que tuvieron valores muy bajos de HA, proporción  $HA TH^{-1}$ , AMA y IIC a los 30 días después de la inoculación, tuvieron un comportamiento muy bueno a los 60 días después de la inoculación (Tabla 6).

### 3.3.2. Segunda evaluación.

Basándose en los resultados de la primera evaluación, se seleccionaron cuatro accesiones para ser incluidas en la segunda evaluación, ya que mostraron una buena respuesta (Ag-01 y Ag-02), una respuesta moderada (C-02) y una mala respuesta (B-10), tanto en las evaluaciones de 30 como de 60 días después de la inoculación. Desafortunadamente, la accesión A-06, que mostró un buen comportamiento en la primera evaluación y estaba prevista para ser incluida también, tuvo una germinación deficiente (<10%) y, por lo tanto, fue descartada para la segunda evaluación. El análisis de varianza encontró diferencias significativas entre accesiones en la mayoría de los caracteres, con la única excepción de AMA, y en la mayoría de los casos, el efecto del bloque también fue significativo, lo que se consideró al realizar el análisis *post-hoc* (Tabla suplementaria 3 en el repositorio). En general, la gravedad de los síntomas a los 30 días después de la inoculación en todas las accesiones fue mayor en esta segunda evaluación que en la registrada en el primer ensayo (Tablas 6 y 7; Figura 9).

Tabla 7. Valores promedio del segundo ensayo para el número total de hojas (TH), hojas afectadas (HA), proporción HA/TH, área máxima afectada (AMA) y índice de infección compuesto (IIC) a los 30 y 60 días después de la inoculación (DDI)

	TH		HA		HA/TH		AMA		IIC	
	30 DDI	60 DDI	30 DDI	60 DDI	30 DDI	60 DDI	30 DDI	60 DDI	30 DDI	60 DDI
<i>Capsicum annuum</i>										
A-09	7,04 A	10,59 A	6,03 ABC	4,77 AB	0,85 ABC	0,62 D	0,42 A	0,18 A	0,64 AB	0,40 B
A-10	10,18 AB	21,13 AB	5,70 ABC	7,63 AB	0,59 ABC	0,36 ABC	0,34 A	0,20 A	0,47 AB	0,28 AB
A-12	5,84 A	19,87 AB	3,75 ABC	4,24 AB	0,73 ABC	0,21 ABC	0,25 A	0,14 A	0,49 AB	0,18 AB
A-13	9,60 AB	22,04 AB	7,51 ABC	5,96 AB	0,74 ABC	0,27 ABC	0,37 A	0,22 A	0,56 AB	0,24 AB
A-14	5,93 A	18,31 AB	4,58 ABC	6,49 AB	0,84 ABC	0,44 BCD	0,30 A	0,22 A	0,57 AB	0,33 AB
A-16	3,57 A	18,43 AB	2,48 AB	3,94 AB	0,93 ABC	0,24 ABC	0,48 A	0,13 A	0,70 AB	0,18 AB
A-17	8,24 A	25,27 AB	5,95 ABC	9,04 AB	0,78 ABC	0,35 ABC	0,35 A	0,22 A	0,56 AB	0,29 AB
A-18	7,70 A	19,77 AB	5,10 ABC	5,10 AB	0,77 ABC	0,40 ABCD	0,39 A	0,41 B	0,58 AB	0,41 B

A-21	8,55 A	17,69 AB	7,38 ABC	6,65 AB	0,95 BC	0,46 CD	0,55 A	0,17 A	0,75 B	0,31 AB
A-22	10,35 AB	26,56 ABC	8,59 ABCD	5,97 AB	0,86 ABC	0,23 ABC	0,44 A	0,24 A	0,65 AB	0,23 AB
A-23	5,33 A	18,86 AB	2,90 ABC	3,07 AB	0,52 AB	0,17 ABC	0,18 A	0,17 A	0,35 A	0,17 AB
Co-01	7,15 A	21,91 AB	5,36 ABC	4,46 AB	0,74 ABC	0,20 ABC	0,43 A	0,09 A	0,58 AB	0,14 A
Co-02	3,59 A	16,37 AB	2,29 A	4,27 AB	0,75 ABC	0,24 ABC	0,25 A	0,13 A	0,50 AB	0,19 AB
Co-03	5,39 A	20,67 AB	3,32 ABC	5,26 AB	0,82 ABC	0,27 ABC	0,33 A	0,20 A	0,57 AB	0,23 AB

***C. annuum* var. *glabriusculum***

Ag-01	23,29 D	44,67 CD	10,40 CDE	8,09 AB	0,51 A	0,18 ABC	0,30 A	0,10 A	0,41 AB	0,14 A
Ag-02	10,44 AB	29,92 ABCD	6,54 ABC	8,32 AB	0,71 ABC	0,29 ABC	0,25 A	0,15 A	0,48 AB	0,22 AB
Ag-03	7,45 A	29,08 ABCD	6,44 ABC	8,61 AB	0,89 ABC	0,28 ABC	0,42 A	0,12 A	0,65 AB	0,20 AB
Ag-04	16,72 BC	30,34 ABCD	10,13 BCDE	9,73 B	0,69 ABC	0,30 ABC	0,34 A	0,18 A	0,51 AB	0,24 AB
Ag-06	19,36 CD	73,11 E	15,37 E	14,18 C	0,80 ABC	0,22 ABC	0,33 A	0,29 AB	0,57 AB	0,25 AB

***C. baccatum***

B-10	10,42 AB	33,17 BCD	7,45 ABC	6,19 AB	0,69 ABC	0,18 ABC	0,33 A	0,21 A	0,51 AB	0,19 AB
B-11	10,02 AB	29,07 ABCD	6,64 ABC	4,71 AB	0,75 ABC	0,18 ABC	0,26 A	0,11 A	0,51 AB	0,15 A
B-12	11,48 AB	26,15 ABC	9,29 ABCD	5,33 AB	0,77 ABC	0,19 ABC	0,50 A	0,29 AB	0,63 AB	0,24 AB
B-13	10,88 AB	33,44 BCD	10,38 CDE	3,33 AB	0,94 ABC	0,10 AB	0,37 A	0,21 A	0,65 AB	0,15 A
B-14	21,42 CD	37,00 BCD	14,62 DE	6,96 AB	0,72 ABC	0,19 ABC	0,34 A	0,16 A	0,53 AB	0,17 AB
B-15	11,65 AB	24,96 AB	7,17 ABC	6,04 AB	0,65 ABC	0,24 ABC	0,28 A	0,21 A	0,46 AB	0,22 AB

***C. chinense***

C-02	4,22 A	17,87 AB	3,44 ABC	5,31 AB	0,97 C	0,34 ABC	0,36 A	0,27 AB	0,66 AB	0,31 AB
C-06	6,45 A	26,81 ABC	5,45 ABC	5,85 AB	0,89 ABC	0,22 ABC	0,41 A	0,10 A	0,65 AB	0,16 AB

***C. pubescens***

P-01	10,98 AB	45,73 D	8,11 ABC	2,74 A	0,85 ABC	0,10 AB	0,45 A	0,15 A	0,65 AB	0,12 A
P-02	10,27 AB	37,02 BCD	6,19 ABC	3,20 AB	0,61 ABC	0,08 A	0,53 A	0,16 A	0,57 AB	0,12 A

Media	9,78	27,44	6,85	6,05	0,77	0,26	0,36	0,19	0,57	0,22
-------	------	-------	------	------	------	------	------	------	------	------

\*Valores promedio con diferentes letras dentro de las columnas (ABCDEF) son significativos de acuerdo con el test de rangos múltiples de Student-Newman-Keuls con un  $p$ -valor  $<0.05$ .

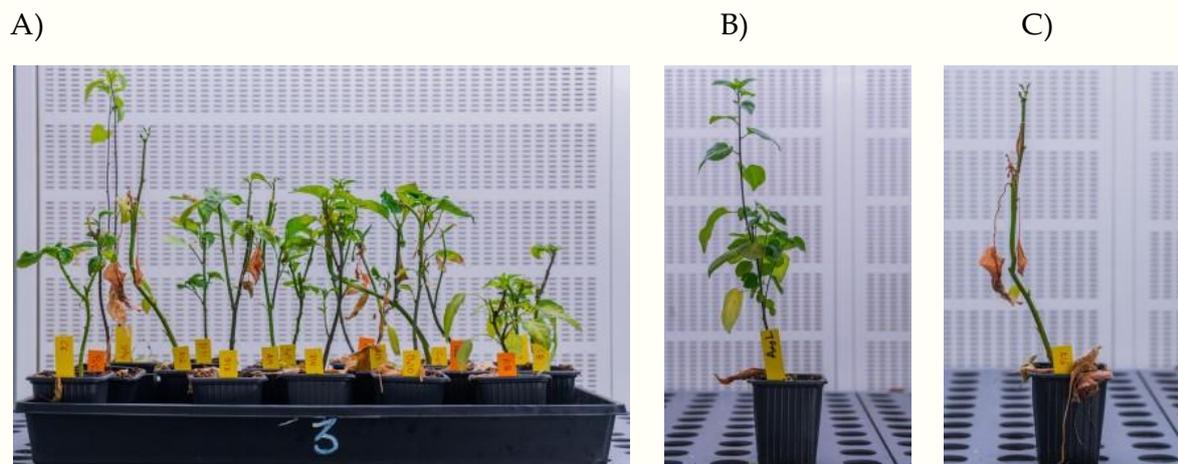


Figura 9. Resultados del experimento; (A) Ejemplo de plantas durante el ensayo; (B) Detalle de Ag-01 y; (C) Detalle de A-16 durante el Segundo ensayo a 30 DDI

Los valores medios de TH a los 30 días después de la inoculación oscilaron entre 3,57 (A-16) y 23,29 (Ag-01) y presentaron diferencias significativas según el ANOVA ( $P < 0,000$ ) (Tabla Suplementaria 3 en el repositorio). La prueba estadístico separó un gran grupo de catorce accesiones con los valores más bajos (A-16, Co-02, C-02, A-23, Co-03, A-12, A-14, C-06, A-09, Co-01, Ag-03, A-18, A-17 y A-21) de otro grupo de cuatro accesiones de *C. annuum* var. *glabriusculum* y *C. baccatum* (Ag-01, Ag-04, Ag-06 y B-14) que mostraron los valores más altos de TH (Tabla 7). En cuanto a HA, se encontraron diferencias significativas entre accesiones (ANOVA,  $P < 0,000$ ) (Tabla Suplementaria 3 en el repositorio) y los valores medios oscilaron entre 2,29 (Co-02) y 15,37 (Ag-06). Las accesiones difirieron estadísticamente de manera similar a TH, con Co-02 y A-16 siendo las mejores accesiones en un grupo y otro grupo como el segundo grupo de TH (B-13, Ag-01, B-14 y Ag-06) (Tabla 7). El ANOVA también detectó una contribución significativa de las accesiones a la variación ( $P < 0,003$ ) en la relación  $HA TH^{-1}$  (ANOVA) (Tabla Suplementaria 3 en el repositorio) y los valores medios se comprendieron entre 0,51 (Ag-01) y 0,97 (C-02) y la mejor accesión Ag-01 difirió significativamente de las dos últimas accesiones (A-21 y C-02) (Tabla 7). Como se mencionó antes, no se encontraron diferencias significativas en el área máxima afectada (AMA) (ANOVA,  $P = 0,350$ ) (Tabla Suplementaria 3 en el repositorio) y el test

estadístico no mostró diferencias significativas entre accesiones, aunque los valores medios oscilaron entre 0,18 (A-23) y 0,55 (A-21) (Tabla 7). Finalmente, se encontraron diferencias significativas entre accesiones en el índice de infección compuesto (IIC) (ANOVA,  $P = 0,018$ ) (Tabla Suplementaria 3 en el repositorio), con los valores medios comprendidos entre 0,35 (la mejor accesión A-23) y 0,75 (A-21), que difirieron significativamente (Tabla 7).

En general, según los valores registrados a los 60 días después de la inoculación, las plantas parecían haberse recuperado de la inoculación (Tabla 7). La ANOVA encontró un efecto significativo de las accesiones en la variación de TH (ANOVA,  $P < 0,000$ ) (Tabla Suplementaria 4 en el repositorio) y los valores medios oscilaron entre 10,59 (A-09) y 73,11 (Ag-06), siendo A-09 significativamente peor que el grupo de accesiones con los valores más altos de TH, una mezcla de *Capsicum spp.* (B-10, B-13, B-14, P-02, Ag-01, P-01 y Ag-06) (Tabla 7). Para HA, también la ANOVA detectó diferencias significativas ( $P < 0,000$ ) (Tabla Suplementaria 4 en el repositorio). Por lo tanto, los valores medios estuvieron comprendidos entre 2,74 (P-01) y 14,18 (Ag-06), aunque solo P-01 fue significativamente mejor que Ag-04 y Ag-06 (Tabla 7). Con respecto a en la proporción HA TH<sup>-1</sup>, los valores medios oscilaron entre 0,08 (P-02) y 0,62 (A-09) y dos grupos de accesiones difirieron significativamente para este carácter, con dos *C. pubescens* y un *C. baccatum* (P-02, P-01 y B-13) mostrando en la proporción HA TH<sup>-1</sup> considerablemente valores más bajos que las dos accesiones de *C. annuum*, A-21 y A-09 (Tabla 7). También se encontraron diferencias significativas en AMA, y los valores medios oscilaron entre 0,09 (Co-01) y 0,41 (A-18), aunque solo se encontraron diferencias significativas entre las 25 mejores accesiones y la peor accesión (A-18) (Tabla 7). Finalmente, también se encontraron diferencias significativas en IIC (ANOVA,  $P < 0,000$ ) (Tabla Suplementaria 4 en el repositorio), con valores medios que oscilaron entre 0,12 (P-02) y 0,41 (A-18), y las mejores seis accesiones (P-02, P-01, Ag-01, Co-01, B-11 y B-13) difirieron significativamente de las dos peores accesiones (Tabla 7).

### 3.3.3. Análisis combinado de los resultados

Con el fin de obtener una perspectiva general del rendimiento de todas las accesiones evaluadas, se calculó la media de puntaje-Z para IIC de aquellas accesiones evaluadas en los dos ensayos (Tablas Suplementarias 5, 6 y 7 en el repositorio). Al representar gráficamente IIC a los 30 DDI frente a IIC a los 60 DDI, se puede observar claramente que muchos genotipos tuvieron una respuesta consistente contra la infección a lo largo del tiempo. Por lo tanto, las medias de puntaje-Z de IIC de A-06, A-23, Ag-01, Ag-02 y C-05, mostraron una respuesta consistente y buena contra la infección durante el periodo de 30-60 DDI (Figura 10, cuadrante naranja a la izquierda), en contraste con la accesión A-21, que mostró una respuesta consistente y mala (Figura 10, cuadrante naranja a la derecha). En comparación, las accesiones como A-02, A-04 y A-08 mostraron altos valores de infección a los 30 DDI, pero una buena respuesta (valores bajos de IIC) a los 60 DDI, lo que sugiere una recuperación de las plantas. Finalmente, las accesiones representadas en la esquina superior izquierda del gráfico, como A-10, tuvieron peores valores a los 60 DDI que a los 30 DDI (Figura 10, cuadrante azul a la izquierda).

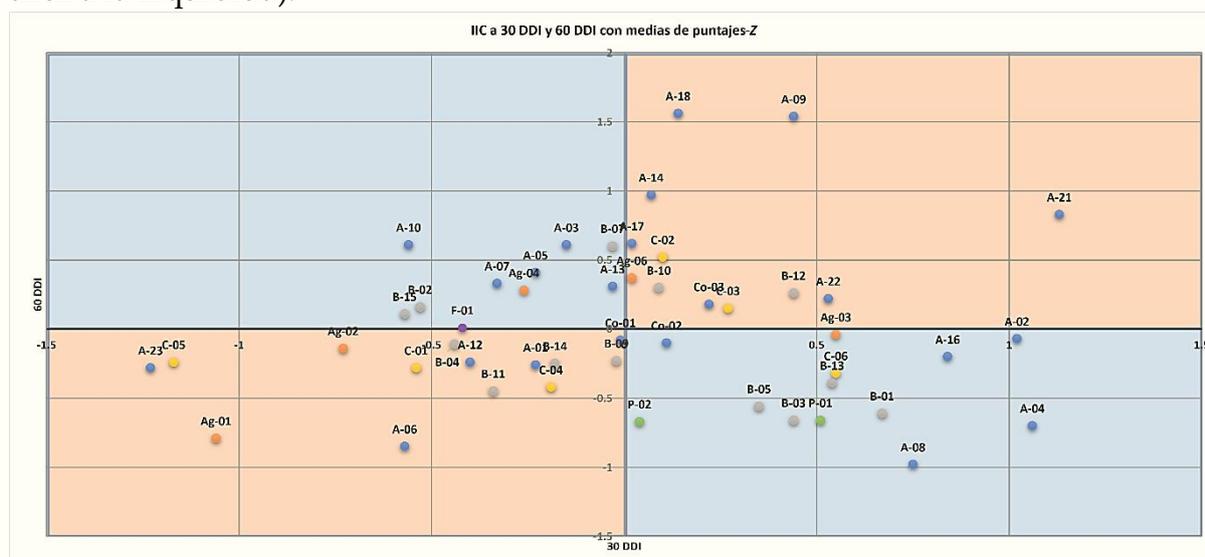


Figura 10. Medias convertidas a puntajes-Z del IIC a los 30 y 60 DDI. Color por spp. Cuadrantes rojos son respuestas estables; abajo a la izquierda son respuestas buenas, arriba a la derecha son malas.

Cuadrantes azules son respuestas cambiantes, arriba a la izquierda es que han empeorado y abajo a la derecha que se están recuperando.

### 3.4. Discusión

En este trabajo se han evaluado varias accesiones de *Capsicum spp.* para determinar su resistencia al oídio. Las diferencias en la arquitectura, tamaño, número de hojas y vigor entre las accesiones podrían dificultar la comparación de su nivel de tolerancia. Además, se ha descrito que las evaluaciones dicotómicas para presencia y ausencia de síntomas son ineficientes para definir adecuadamente la resistencia a *L. taurica* (Lin *et al.*, 2019). El uso de un índice compuesto mitigó esos efectos y permitió una comparación más justa.

Nuestros hallazgos indican que las respuestas a la infección por oídio dependieron en gran medida de las lecturas de DDI. Esto concuerda con otros autores que encontraron diferencias en la respuesta a la inoculación de *L. taurica* según la etapa de desarrollo (de Souza y Café-Filho, 2003). En este estudio, las plantas tuvieron la infección más grave a los 30 DDI, mientras que las respuestas a los 60 DDI fueron variables entre las accesiones. Algunas mostraron una recuperación notable después de un período sin presión de inoculación, mientras que otras mostraron síntomas y nivel de tolerancia similares en ambas evaluaciones e, incluso, otras accesiones mostraron un aumento en los síntomas a los 60 DDI. La resistencia al oídio es compleja ya que puede ser efectiva en diferentes etapas del ciclo de infección y también depende de la edad de la planta. Daubeze *et al.* (1995) estimaron 2,6-3 factores genéticos para plántulas y una presión de inoculación más leve, y 5 factores genéticos para una presión de infección más fuerte y en plantas más viejas. En este sentido, el desprendimiento de hojas es un mecanismo común para lidiar con la infección, lo que permite a la planta sobrevivir y, a veces, recuperarse.

Sin embargo, la producción de fotoasimilados disminuye drásticamente durante un período de tiempo, lo que puede limitar el desarrollo de la planta y el cuajado de frutos.

Si la defoliación ocurre durante el tiempo de fructificación, los frutos pueden estar expuestos a una irradiación excesiva, aumentando el riesgo de quemaduras solares (Elad *et al.*, 2007; Sudha y Lakshmanan, 2009). Por lo tanto, la caída de hojas se considera un indicador de susceptibilidad. Otras respuestas a la infección por oídio son más valiosas para impedir el desarrollo del hongo, especialmente aquellas que bloquean la invasión de las células hospedadoras por el patógeno desde las primeras etapas. Esta es la acción de los genes recesivos *CaMlo1* y *CaMlo2*, que están directamente involucrados en la muerte celular y la formación de especies reactivas de oxígeno, evitando así el establecimiento de apresorios y la penetración de las hifas (Kim y Hwang, 2012). O la respuesta clásica de los genes R, como el gen *PMR1*, un gen mayor rico en repeticiones de leucina y sitio de unión de nucleótido (NBS-LRR, por sus siglas en inglés) recientemente identificado (Jo *et al.*, 2017) que detecta efectores del patógeno e inicia la respuesta inmune. Aun así, la resistencia al oídio tiene una naturaleza cuantitativa, de la cual sólo se han dilucidado algunos QTL (Lefebvre *et al.*, 2003, Eggink *et al.*, 2016, Gabor *et al.*, 2017).

Como era de esperar debido a la naturaleza cuantitativa de la resistencia al oídio, nuestros resultados mostraron un continuo de respuesta a la infección por *L. taurica* en las diferentes accesiones. Registrar la reacción en dos DDI diferentes nos permitió seleccionar accesiones con una respuesta consistente de baja infección a lo largo del tiempo, como Ag-01, Ag-02, A-06, A-23, pertenecientes a *C. annuum* y C-05, de *C. chinense*. A diferencia de otros autores (Blat *et al.*, 2005 y 2006, McCoy y Bosland, 2019), nuestros hallazgos no identificaron fuentes de resistencia entre las accesiones de *C. baccatum* probadas aquí. Los mejores resultados de los experimentos correspondieron a Ag-01 en ambos ensayos, y otra fuente prometedora de variación fue Ag-02, aunque mostró un comportamiento menos tolerante en el segundo ensayo. Ambos materiales pertenecen a *C. annuum* var. *glabriusculum*, también conocido como chiltepines. Este taxón silvestre, filogenéticamente cercano a *C. annuum* (Pereira-Dias *et al.*, 2019), es una nueva fuente de genes de resistencia o tolerancia solo sugerida previamente por

McCoy y Bosland (2019). Debido a su compatibilidad cruzada con *C. annuum*, ofrecen la oportunidad de introgresiones fáciles de genes de interés por hibridación sexual, incluso más fácil que *C. chinense* o *C. frutescens* (Manzur *et al.*, 2015). Además, la morfología de las hojas con una mayor densidad de pelos en Ag-01 que en otras accesiones probadas puede sugerir la presencia de mecanismos de defensa física inexplorados, como se sugiere en otras especies (Kono *et al.*, 2018).

### 3.5. Conclusiones

La resistencia al oídio está controlada por varios genes y el nivel de resistencia varía con la edad de la planta y el fondo genético. Aunque previamente se han descrito algunas fuentes de resistencia, la búsqueda de nuevas accesiones tolerantes aún continúa. Tradicionalmente, se ha encontrado una alta tolerancia al oídio en otras especies diferentes a *C. annuum*. Sin embargo, aquí hemos encontrado una alta tolerancia dentro del taxón *C. annuum*, en la variedad *glabriusculum*, lo que puede facilitar la introducción de genes de resistencia en variedades comerciales de pimientos comunes. Estudios adicionales en plantas adultas, bajo diferentes condiciones ambientales y análisis genéticos, pueden confirmar el potencial de las accesiones de *C. annuum* var. *glabriusculum* como nuevas fuentes de resistencia.

### 3.6. Referencias bibliográficas

Albert, R., Künstler, A., Lantos, F., Adám, A. L. (2017). Graft-transmissible resistance of cherry pepper (*Capsicum annuum* var. *cerasiforme*) to powdery mildew (*Leveillula taurica*) is associated with elevated superoxide accumulation, NADPH oxidase activity and pathogenesis-related gene expression. *Acta Physiologiae Plantarum* 39:53. <https://doi.org/10.1007/s11738-017-2353-5>

Bai, Y., Huang, C. C., van der Hulst, R., Meijer-Dekens, F., Bonnema, G., Lindhout, P. (2003). QTLs for tomato powdery mildew resistance (*Oidium lycopersici*) in *Lycopersicon parviflorum* G1.1601 co-localize with two qualitative powdery mildew resistance genes.

Molecular Plant-Microbe Interactions 16(2):169-176.  
<https://doi.org/10.1094/MPMI.2003.16.2.169>

Blat, S. F., da Costa, C. P., Vencovsky, R., Sala, F. C. (2005). Inheritance of reaction to *Leveillula taurica* (Lev.) Arn. In *Capsicum annuum* L. *Scientia Agricola* 62(1):40-44.  
<https://doi.org/10.1590/S0103-90162005000100008>

Blat, S. F., da Costa, C.P., Vencovsky R, Sala FC (2006). Hot pepper (*Capsicum chinense*, Jacq.) inheritance of reaction to powdery mildew. *Scientia Agricola* 63(5):471-474.  
<https://doi.org/10.1590/S0103-90162006000500008>

Daubeze, A. M., Hennart, J. W., Palloix, A. (1995). Resistance to *Leveillula taurica* in pepper (*Capsicum annuum*) is oligogenically controlled and stable in Mediterranean regions. *Plant Breeding* 114:327-332. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.1995.tb01243.x>

de Souza, V. L., Café-Filho, A. C. (2003). Resistance to *Leveillula taurica* in the genus *Capsicum*. *Plant pathology* 52:613-619. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3059.2003.00920.x>

Eggink, P. M., D'hoop, B. B., Brouwer, M., Deniau, A. X. (2016). Resistance against *Leveillula taurica* in Pepper. U.S. Patent No 9,351,451. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.

Elad, Y., Messika, Y., Brand, M., David, D. R., Sztejnberg, A. (2007). Effect of microclimate on *Leveillula taurica* powdery mildew of sweet pepper. *Phytopathology* 97(7):813-824. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-97-7-0813>

FAOSTAT. Statistic division, Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, Italy. Revisado 2021 marzo 01 en: <http://www.fao.org/faostat/>

Gabor, B. K., Just, B. J., Huang, C., Jones, C. M., Vreugdenhil, D., Kniskern, J. M. (2017). Methods and Compositions for Producing *Capsicum* Plants with Powdery Mildew Resistance. U.S. Patent No 9,689,045. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.

Hayano-Kanashiro, C., Gámez-Meza, N., Medina-Juárez, L. Á. (2016). Wild pepper *Capsicum annuum* L. var. *glabriusculum*: Taxonomy, plant morphology, distribution, genetic diversity, genome sequencing, and phytochemical compounds. *Crop Science* 56(1):1-11. <https://doi.org/10.2135/cropsci2014.11.0789>

Hoshmand, R. (2020). Design of experiments for agriculture and the natural sciences (2nd edition). Chapman and Hall/CRC.

Jo, J., Venkatesh, J., Han, K., Lee, H. Y., Choi, G. J., Lee, H. J., Choi, D., Kang, B. C. (2017). Molecular mapping of PMR1, a novel locus conferring resistance to powdery mildew in pepper (*Capsicum annuum*). *Frontiers in Plant Science* 8: 2090. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.02090>

Kim, D. S., Hwang, B. K. (2012). The pepper MLO gene, CaMlo2, is involved in susceptibility cell death response and bacterial and oomycete proliferation. *The Plant Journal* 72:843-855. <https://doi.org/10.1111/tpj.12003>

Kono, A., Ban, Y., Mitani, N., Fujii, H., Sato, S., Suzaki, K., Azuma, A., Onoue, N., Sato, A. (2018). Development of SSR markers linked to QTL reducing leaf hair density and grapevine downy mildew resistance in *Vitis vinifera*. *Mol Breeding* 38, 138 (2018). <https://doi.org/10.1007/s11032-018-0889-8>

Kraft, K. H., Luna-Ruíz, J., Gepts, P. (2013). A new collection of wild populations of *Capsicum* in Mexico and the southern United States. *Genetic Resources and Crop Evolution* 60(1):225-232. <https://link.springer.com/article/10.1007/s10722-012-9827-5>

Lee, O. H., Hwang, H. S., Kim, J. Y., Han, J. H., Yoo, Y. S., Kim, B. S. (2001). A search for Sources of Resistance to Powdery Mildew (*Leveillula taurica* (Lév.) Arn) in Pepper (*Capsicum* spp.). *Korean Journal of Horticultural Science and Technology* 19(1):7-11.

Lefebvre, V., Daubèze, A. M., Rouppe van der Voort, J., Peleman, J., Bardin, M., Palloix, A. (2003). QTLs for resistance to powdery mildew in pepper under natural and artificial infections. *Theoretical and Applied Genetics* 107:661-666.

Lin, K., Gong, L., Huang, Y., Liu, C., Pan, J. (2019). Deep learning-based segmentation and quantification of cucumber powdery mildew using convolutional neural network. *Frontiers in Plant Sciences* 10:155. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00155>

Luna-Ruiz JdJ, Pérez-Chávez MS, Martínez-de-Anda JA, Sosa-Ramírez J (2018). Distribución ecogeográfica del chile silvestre en México y su conservación ex situ. In: Aguilar-Meléndez A, Vásquez-Dávila, M. A., Katz, E., Hernández-Colorado, M. R. (Eds). *Los chiles que le dan sabor al mundo*. IRD Éditions. <https://doi.org/10.4000/books.irdeditions.30934>

Manzur, J. P., Fita, A., Prohens, J., Rodríguez-Burruezo, A. (2015). Successful wide hybridization and introgression breeding in a diverse set of common peppers (*Capsicum annuum*) using different cultivated ají (*C. baccatum*) accessions as donor parents. *PLoS ONE* 10:12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144142>

McCoy, J. E., Bosland, P. W. (2019). Identification of resistance to powdery mildew in chile pepper. *HortScience* 54(1):4-7. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI13596-18>

Molot, P. M., Leroux, J. P., Diop-Bruckler, M. (1990). *Leveillula taurica* (Lév) Arn: cultures axéniques, biologie et spécificité parasitaire [*Leveillula taurica* (Lév) Arn: axenic cultures, biology and parasite specificity]. *Agronomie* 10(7):551-559. <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00885316>

Molot, P. M., Leroux, J. P., Ferriere, H. (1987). Les oïdiums des cucurbitacées. II. Mise au point d'une technique de conservation des souches en culture axénique [Powdery mildew of cucurbits. II. Development of a technique for the conservation of strains in axenic culture]. *Agronomie* 7(5):339-343. <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00884999>

Özer, N., Kün, A., İlbi, H. (2018). Detached leaf test for evaluation of resistance to powdery mildew in pepper. *Agricultural Research & Technology: Open access journal* 14:3. <https://doi.org/10.19080/ARTOAJ.2018.14.555923>

Parisi, M., Alioto, D., Tripodi, P. (2020). Overview of biotic stresses in pepper (*Capsicum* spp.): Sources of genetic resistance, molecular breeding and genomics. *International Journal of Molecular Sciences* 21(7):2587. <https://doi.org/10.3390/ijms21072587>

Pereira-Dias, L., Vilanova, S., Fita, A., Prohens, J., Rodríguez-Burruezo, A. (2019). Genetic diversity, population structure, and relationships in a collection of pepper (*Capsicum* spp.) landraces from the Spanish center of diversity revealed by genotyping-by-sequencing. *Horticulture Research* 6:54. <https://doi.org/10.1038/s41438-019-0132-8>

Robbins, M. G. L., Hoffmann, D. R. T., Wang, F. V. (2017). Anticarcinogenic flavonoids in different fruits commonly consumed. *Plant Sciences Journal* 40:2379-2383.

Smith, D. (2019). Biosynthesis of phenolic compounds and its regulation in pear. *Journal of Biosynthesis* 37(1):54-63.

Sudha, A., Lakshmanan, P. (2009). Integrated disease management of powdery mildew (*Leveillula taurica* (Lev.) Arn.) of chilli (*Capsicum annum* L.). *Archives of Phytopathology and Plant Protection* 42:299-317. <https://doi.org/10.1080/03235400601037198>

Thordal-Christensen, H., Zhang, Z., Wei, Y. (1997). Subcellular localization of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> accumulation in papillae and hypersensitive response during the barley-powdery mildew interaction. *The Plant Journal* 11(6):1187-1194. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.1997.11061187.x>

Zheng Z (2012). Exploration of MLO-based resistance in vegetable crops. PhD Thesis, Wageningen University, Netherlands.

Zheng, Z., Nonomura, T., Bóka, K., Matsuda, Y., Visser, R. G. F., Toyoda, H., Kiss, L., Bai, Y. (2013). Detection and quantification of *Leveillula taurica* growth in pepper leaves. *Phytopathology* 103:623-632. <https://doi.org/10.1094/PHTO-08-12-0198-R>

**Producto de esta investigación, se ha publicado en la revista *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* en 2021 el artículo “*Novel sources of resistance to powdery mildew (*Leveillula taurica* (Lév.) Arnaud) in pepper*”, con el identificador de objeto digital: <https://doi.org/10.15835/nbha49212354>**

**4. Capítulo 2: Estudio de la interacción del suelo rizosférico y el sistema radicular de genotipos de *Capsicum spp*; Influencia del manejo agronómico ecológico y convencional.**



## 4.1. Introducción

Los pimientos son uno de los vegetales (y especias) más relevantes en el mundo. Son un cultivo económicamente importante, especialmente apreciado por sus propiedades nutricionales y contenido antioxidante (Rodríguez-Burruezo *et al.*, 2010). En España, que es el principal productor de pimientos dentro de la UE (FAOSTAT, 2022), los pimientos se cultivan principalmente como un cultivo intensivo de alta demanda en las regiones de Andalucía y Murcia (MAPA, 2022). Sin embargo, en los últimos años, la agricultura orgánica está aumentando en importancia (Willer *et al.*, 2021). Esto puede generar dificultades ya que es bien sabido que las características de las plantas, el desarrollo, el rendimiento y la calidad se ven afectados por el ambiente (Ribes-Moya *et al.*, 2018 y 2020, Tripodi *et al.*, 2018). La mayoría de los trabajos de investigación se centran en las condiciones de temperatura o hidrológicas, pero se sabe poco sobre el ambiente del suelo, que puede ser profundamente diferente de un campo a otro, especialmente si están bajo distintos tipos de manejo. Diferentes condiciones del ambiente del suelo afectan la nutrición (Zheng *et al.*, 2019) y la condición de salud del suelo. Por ejemplo, es bien conocido el efecto de las bacterias promotoras del crecimiento de las raíces de las plantas (PGPR, por sus siglas en inglés) en la inducción de la llamada “tolerancia sistémica inducida” (IST, por sus siglas en inglés) en las plantas bajo diferentes estreses abióticos (Kloepper *et al.*, 2004, Kandasamy *et al.*, 2009, Yang *et al.*, 2009). La mayoría de estas interacciones tienen lugar a nivel de la rizosfera.

La rizosfera es la zona biológicamente activa del suelo donde las raíces de las plantas y los suelos interactúan, y es de gran importancia tanto para el rendimiento de las plantas como para el ciclo de nutrientes y el funcionamiento del ecosistema (Singh *et al.*, 2004). Los procesos de la rizosfera están poco comprendidos y los suelos agrícolas *in situ* están en gran parte sin caracterizar (Wang *et al.*, 2020). Las dinámicas en la rizosfera implican complejas interacciones de raíces, exudados de raíces, propiedades físicas y químicas de los suelos y microorganismos del suelo, entre otros. Todos estos

factores cambian según los demás en el sistema del suelo. En primer lugar, la arquitectura de las raíces y los exudados de raíces dependen principalmente de la especie de planta, del genotipo y de las técnicas de cultivo, especialmente del régimen de fertilización (Sánchez-Cañizares *et al.*, 2017, Pereira *et al.*, 2020). Se ha demostrado cómo los exudados de raíces pueden moldear la comunidad microbiana en la rizosfera (Aira *et al.*, 2010). En segundo lugar, al igual que el genotipo de la planta con sus exudados, los diferentes sistemas de cultivo modifican las comunidades microbianas de la rizosfera (Toljander *et al.*, 2007). Por ejemplo, la fertilización química utilizada en la agricultura convencional suministra nutrientes, principalmente N, P y K, mientras que los fertilizantes orgánicos también suministran diferentes cantidades de C con macro y micronutrientes, seleccionando así comunidades microbianas con diferentes requisitos nutricionales (Edwards, 2004, Tate, 2000). Además, las diferentes técnicas aplicadas (labranza, fertilización inorgánica, etc.) modifican las propiedades del suelo y el microbioma (Nelkner *et al.*, 2019). Por último, los microbios del suelo pueden desempeñar un papel importante en el crecimiento y la absorción de nutrientes por las plantas, así como en la modificación de la tolerancia de las plantas a los estreses bióticos y abióticos. Los genotipos, el sistema de cultivo y los microorganismos moldean el rendimiento de un cultivo en el campo y, por lo tanto, son aspectos importantes que considerar en la selección y mejor de cultivos.

La diversidad dentro de la comunidad microbiana y la diversidad funcional del suelo son medidas efectivas para ilustrar los efectos de las acciones naturales y antropológicas en el suelo (Degens y Harris, 1997, Griffiths y Philippot, 2013). La caracterización de la diversidad de la comunidad microbiológica del suelo y la diversidad funcional se puede evaluar de diferentes formas, como determinar los perfiles microbianos (Nkongolo *et al.*, 2020), analizar el potencial catabólico microbiano (Degens *et al.*, 2000), analizar las actividades enzimáticas del suelo (Aon *et al.*, 2001) y mediante medidas de respiración inducida por sustratos (Lin *et al.*, 1999). Las evaluaciones de la actividad microbiana con el sistema MicroResp® necesitan

pequeños volúmenes de suelo, lo que hace que el método sea adecuado para estudios de la rizosfera (Campbell *et al.*, 2003). Estos caracteres pueden utilizarse como indicadores apropiados de la heterogeneidad y el comportamiento del suelo y se han utilizado ampliamente para verificar el estado de salud del suelo en diferentes sistemas agrícolas (Fierer *et al.*, 2021).

En resumen, para pasar de sistemas agrícolas intensivos a una agricultura menos agresiva, se necesita un mayor conocimiento sobre los procesos de la rizosfera. En este trabajo, se estudian cuatro accesiones de pimientos, seleccionadas por tener sistemas radiculares y eficiencias en el uso del fosforo diversos (Pereira *et al.*, 2020) y han sido estudiados a nivel de rizosfera y raíz bajo dos sistemas de cultivo (orgánico y convencional) para comprender mejor las interacciones raíz-suelo y promover una agricultura más sustentable.

## **4.2. Materiales y métodos**

### *4.2.1. Material vegetal, diseño experimental y muestreo.*

Cuatro accesiones diferentes de pimiento, dos mediterráneas (*Bola* y *Piquillo*) y dos latinoamericanas (*BOL-58* y *Serrano*), fueron cultivadas en campo abierto durante las temporadas de primavera-verano de 2018 en dos sistemas de cultivo (SC): un campo manejado orgánicamente (SC-O) y un campo convencional (SC-C), ambos ubicados en Sagunto, Valencia, España. Tres bloques de cinco plantas por accesión fueron distribuidos aleatoriamente en cada campo. También se consideraron dos etapas fenológicas (EF): al final de la etapa vegetativa (T1) y al final de la etapa de fructificación (T2).

Muestras de suelo de la rizosfera (100 g) correspondientes a cada genotipo se obtuvieron de la siguiente manera: en T1 y T2, se retiraron los primeros 5 cm de suelo superficial de una planta por bloque para evitar la contaminación de la superficie. Luego, se limpió la pala y se excavó la planta completa al menos a 20 cm de profundidad, tomándose la muestra cuidadosamente entre las raíces. Se tomaron tres

muestras de suelo como control con la misma profundidad y procedimiento, pero de los pasillos entre caballones, para cada SC. Todas las muestras de suelo (rizosféricas y control) y las plantas (partes aéreas y subterráneas) se refrigeraron y procesaron dentro de las 24 horas posteriores al muestreo.

#### 4.2.2. Respiración inducida (RI)

El análisis de respiración se realizó mediante el sistema basado en microplacas MicroResp®, de acuerdo con el manual del fabricante (James Hutton Ltd. Scotland, UK. V3.2 octubre 2017) (Campbell *et al.*, 2003) con modificaciones. Siguiendo las recomendaciones del manual y la disponibilidad, se utilizaron múltiples fuentes de carbono como sustratos para la RI: ácido cítrico (AcCi), ácido málico (AcMa), galactosa (Gal) y glucosa (Glu). Las lecturas de absorbancia se realizaron a 595 nm y se convirtieron en tasas de respiración ( $\mu\text{g CO}_2$  liberado por g de suelo<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>). Para los cálculos de CO<sub>2</sub>, cada microplaca incluía una fila de pozos de calibración en los que se agregaron cantidades conocidas de la Rx inorgánica: ácido cítrico + bicarbonato de sodio para producir cantidades conocidas de citrato de sodio + dióxido de carbono. Las lecturas de absorbancia de los pozos de calibración en la placa se transformaron en tasas de liberación de CO<sub>2</sub> (respiración) gracias a una curva de calibración de liberación de CO<sub>2</sub> con la misma reacción creada con el sistema Checkpoint O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>® de Dansensor.

#### 4.2.3. Análisis de la actividad enzimática

La actividad de las fosfomonoesterasas ácida y alcalina (PhAc y PhAl, respectivamente) se midió según el método descrito por Tabatabai y Bermner (1969) (actividad de las fosfatasa en  $\mu\text{mol}$  de p-nitrofenol suelo g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>). Consistió en la determinación espectrofotométrica del p-nitrofenol liberado cuando el suelo se incubó a 37 °C durante 1 h con una solución amortiguada (pH = 6,5 para la ácida, pH = 11 para la alcalina) de p-nitrofenilfosfato. La cantidad de p-nitrofenol liberado se midió con un espectrofotómetro a una longitud de onda de 400 nm. Para obtener las

concentraciones finales, los datos brutos de absorbancia por muestra se interpolan en la curva de calibración estándar.

La actividad de la  $\beta$ -glucosidasa (BGlu) se midió como se describe en Tabatabai (1982). El método colorimétrico se basa en la determinación del p-nitrofenol obtenido por la acción de la enzima  $\beta$ -glucosidasa después de incubar el suelo con el sustrato p-nitrofenil  $\beta$ -D-glucopiranosido a pH 6. La incubación se lleva a cabo a 37 °C durante una hora y el p-nitrofenol liberado se eliminará por filtración después de la adición de  $\text{CaCl}_2$  y THAM-NaOH pH 12. Con las lecturas de absorbancia a 400 nm del estándar, se calculó la curva de calibración, que se utilizó para obtener la concentración en  $\mu\text{mol}$  de p-nitrofenol suelo  $\text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$ . Con los valores obtenidos, se calculó la actividad neta.

La actividad de la deshidrogenasa (DeHy) se midió según se describe en Trevors (1982) y García *et al.* (1993). La reacción enzimática se basa en la medición espectrofotométrica a una longitud de onda de 540 nm de formazán iodonitrotetrazolio (INTF, por sus siglas en inglés) formado cuando el suelo se incubó con 2-p-iodofenil-3-p-nitrofenil-5-feniltetrazolio (INT, por sus siglas en inglés) en oscuridad durante 20 h a 20 °C. La absorbancia de la muestra se interpoló en la curva de calibración, obteniendo la cantidad de  $\mu\text{mol}$  INTF suelo  $\text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$ .

La actividad de la ureasa (Ur) se midió siguiendo el método descrito por Kandeler y Gerber (1988) y modificado por Kandeler *et al.* (1999). Este método colorimétrico se basa en la determinación del amonio liberado en la incubación de una solución de suelo a 37 °C durante 2 horas, donde el amoníaco producido por la actividad de la ureasa reacciona con salicilato e isocianuro dicloro para dar un color azul verdoso. La absorbancia a 610 nm se convirtió en la concentración de nitrógeno amoniacal ( $\mu\text{mol}$   $\text{N-NH}_4^+$  suelo  $\text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ).

#### 4.2.4. Recuentos microbianos

Para cultivar y contar diferentes microorganismos del suelo, se utilizó un gramo de suelo por muestra: el recuento total de bacterias aerobias mesófilas viables

(TVA) se realizó con Agar para Placa de Recuento (Scharlau, Barcelona, España) a 28 °C durante 48 horas, el recuento total de mohos y levaduras (TMY) con Agar Sabouraud Cloranfenicol (Scharlau, Barcelona, España) a 28 °C durante 3 días, el recuento total de bacterias anaerobias estrictas (TAn) con Agar Schaendler (Conda Pronadisa, Madrid, España) a 37 °C en una atmósfera de CO<sub>2</sub> durante 48 horas y el recuento total de bacterias oligotróficas (TO) con Agar Oligotrófico, compuesto de fosfato dipotásico (Panreac, Barcelona, España), sulfato de magnesio heptahidratado (Panreac, Barcelona, España), peptona (Scharlau, Barcelona, España), glicerina (Scharlau, Barcelona, España) y agar bacteriológico (Labkem, Dublín, Irlanda) (Alef y Nannipieri, 1995) a 28 °C durante 5 días. Todos los análisis se realizaron por duplicado. Los resultados se expresaron en log UFC g<sup>-1</sup> de suelo.

#### 4.2.5. Ciclo de nitrógeno

Las muestras de suelo de la rizosfera se sometieron a pruebas para evaluar su capacidad para realizar diferentes pasos del ciclo del N<sub>2</sub>. Para evaluar la mineralización, nitrificación I y II, y el potencial de desnitrificación de las rizosferas, se agregaron 0,1 g de suelo a diferentes sustratos (según se detalla a continuación) y se incubaron a 28 °C durante 1 a 3 semanas, realizando mediciones cada semana de la producción de NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> y N<sub>2</sub>, respectivamente.

Se utilizó agua peptona (Scharlau, Barcelona, España) como sustrato para el proceso de mineralización (Am); la producción de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> se midió siete días después de la siembra mediante un método de tira de prueba colorimétrico basado en el reactivo de Neßler (Mquant TM Ammonium test, Merk Darmstadt, Alemania).

Se utilizó solución de sulfato de amonio para medir la conversión de amoníaco en nitrato, a partir de ahora llamada nitrificación I (NIT-I), después de catorce días de incubación utilizando tiras de prueba (Mquant TM, Nitrites test Merk Darmstadt, Alemania). La concentración de iones nitrito se calculó observando el cambio de color producido por un azodímero rojizo-violeta que se forma debido a la diazotización de

la especie nitrosante y el acoplamiento subsiguiente con N-(1-naftil) etilendiamina (Capitán *et al.*, 2003).

Se utilizó solución de nitrito para medir la nitrificación II (NIT-II) con la misma frecuencia que la anterior mediante tiras de prueba (Mquant TM Nitrates test Merk Darmstadt, Alemania). Los iones nitrato se miden basándose en las mismas reacciones químicas que en la nitrificación I. El ion nitrato se reduce a ion nitrito; estos iones nitritos, en un medio ácido, forman la especie nitrosante y, al reaccionar con una amina aromática, experimentan diazotización, formando una sal diazonio que, más tarde, se une a N-(1-naftil) etilendiamina, dando lugar a un azodímero rojo-violáceo (Capitán *et al.*, 2003).

Se utilizó solución de nitrato para medir la desnitrificación (DN) a través del nivel de gas nitrógeno producido a los 7, 14 y 21 días, el cual se evaluó con una campana de Durham y se expresó en una escala del 0 al 4. Los resultados se expresaron en  $\text{mg NH}_4\text{-N g}^{-1}$ ,  $\text{mg NO}_2\text{-N g}^{-1}$ ,  $\text{mg NO}_3\text{-N g}^{-1}$  y producción de  $\text{N}_2$  en una escala del 0 al 4.

#### 4.2.6. Evaluación de las muestras vegetales

La biomasa vegetal (partes aéreas, frutos y raíces) fue pesada fresca y seca. Todos los parámetros fueron muestreados en T1 y T2, excepto el peso del tocón y los frutos. Estos solo se obtuvieron en T2, ya que las plantas no eran lo suficientemente grandes en T1 y la raíz no estaba muy diferenciada y no tenía frutos. Los pesos frescos y secos de la parte aérea (AeF y AeD, respectivamente), los frutos frescos (FF), los pesos frescos y secos de la raíz (RF y RD, respectivamente), los pesos frescos y secos del tocón (TF y TD, respectivamente) fueron medidos.

Las raíces fueron lavadas, extendidas en una lámina transparente y escaneadas para su medida. Las imágenes de las raíces escaneadas se midieron con WinRHIZO-Pro 2003b, obteniendo el diámetro promedio (DP, cm), la densidad de ramificación (DH, número de horquillas por longitud total), el número de horquillas (NH), la densidad de raíces (DR, peso seco (g) por volumen ( $\text{cm}^3$ )), el área superficial (AS,  $\text{cm}^2$ ), la

longitud total (LT, cm), el volumen total (VT, m<sup>3</sup>) y la longitud por rangos de diámetro (0,5, 0,5-2,5 y >2,5 mm).

#### 4.2.7. Análisis estadísticos

Para conocer las diferencias entre los efectos principales (accesiones y control, SC, e interacción), se realizó un análisis de varianza multivariado (MANOVA) para cada variable, y se llevó a cabo la prueba de Student-Newman-Keuls (SNK) para comparar las accesiones en cada sistema de cultivo y tiempo utilizando el software Statgraphics V.18.1.13 (64 bits).

Otros análisis se realizaron con R (Equipo de R Core, x64 V.4.1.0 (2021-05-18) en Rstudio Team, V.1.4.1106 (2021-02-11)): para el análisis del coeficiente de correlación múltiple de Pearson en cada etapa se usaron los paquetes *corrplot* (Wei *et al.*, 2021), *svglite* (Wickham *et al.*, 2022); el análisis factorial exploratorio (EFA) se realizó en cada etapa fenológica. Para EFA, se utilizaron los paquetes *psych* (Revelle, 2020, V. 2.1.6), *tidyverse* (Wickham *et al.*, 2021, V. 1.3.1), *mvnormtest* (Jarek, 2012, V. 0.1-9), *nFactors* (Raiche y Magis, 2020, V. 2.4.1), *EFA.MRFA* (Navarro-González y Lorenzo-Seva, 2021, V. 1.1.2), *dplyr* (Wickham *et al.*, 2021, V. 1.0.7). El número final de factores a retener fue decidido considerando tres criterios: Numero de valores *eigen* mayores a uno, análisis paralelo y conocimiento previo sobre los efectos principales (efectos del MANOVA). Mapa de calor completo, tablas suplementarias y código en lenguaje R en el repositorio <https://github.com/ivaethia/efa-root-soil>

### 4.3. Resultados

Todos los datos obtenidos fueron sometidos a una primera MANOVA exploratoria para identificar los posibles efectos de las accesiones y el sistema de cultivo en las características de la rizosfera y el rendimiento de la planta. Este análisis se realizó separando los dos momentos de muestreo, que corresponden a dos etapas fenológicas de la planta: en la etapa vegetativa (T1, verano) y en la etapa tardía de

fructificación (T2, otoño). La MANOVA mostró un gran efecto del sistema de cultivo sobre las características de la rizosfera estudiadas en T1 (Figura 11a). En este primer momento, 9 de las 17 variables evaluadas en la rizosfera mostraron diferencias significativas debido al sistema de cultivo, en contraste con solo 1 variable que mostró diferencias significativas según la accesión. Curiosamente, se observó una interacción accesión × sistema de cultivo en 5 variables estudiadas. Esta situación cambió en T2 (Figura 11b), donde aunque el efecto del sistema de cultivo fue el más alto, siendo significativo para 12 de las 17 variables, el efecto de las accesiones aumentó el número de variables con diferencias significativas, siendo 7 de las 17 variables. En esta etapa fenológica, el efecto de la interacción fue significativo para 5 características de nuevo, pero solo 1 fue la misma que en T1. En el caso de las características de raíz y biomasa, la influencia de la accesión en T1 fue tan importante como el efecto del sistema de cultivo y la interacción, siendo significativo en 9, 9 y 10 de las 14 características, respectivamente (Figura 11a). En T2, los efectos de la accesión y del sistema de cultivo aumentaron (15 y 11, respectivamente, Figura 1b). En las secciones siguientes se describirán los valores de las diferentes características de la rizosfera y la planta en cada sistema de cultivo y momento de muestreo.

#### *4.3.1. Características de la rizosfera.*

##### *4.3.1.1. Respiración inducida por sustrato.*

En T1, la respiración inducida fue significativamente diferente entre los sistemas de cultivo independientemente del sustrato (Figura 11a y Tabla 8). La inducción con ácido cítrico (AcCi) y ácido málico (AcMa) produjo una menor respiración en el sistema de cultivo orgánico que en el convencional: 17,70  $\mu\text{g CO}_2 \text{ g suelo}^{-1} \text{ h}^{-1}$  en orgánico vs 53,02  $\mu\text{g CO}_2 \text{ g suelo}^{-1} \text{ h}^{-1}$  en convencional, 21,47  $\mu\text{g CO}_2 \text{ g suelo}^{-1} \text{ h}^{-1}$  en orgánico vs 47,02  $\mu\text{g CO}_2 \text{ g suelo}^{-1} \text{ h}^{-1}$  en convencional, respectivamente (Tabla 8). AcCi también mostró interacción entre accesión y sistema de cultivo, probablemente debido al diferente rendimiento de la accesión *Bola*, que tiene una

mayor respiración en el sistema orgánico,  $45,82 \mu\text{g CO}_2 \text{ g suelo}^{-1} \text{ h}^{-1}$ , que en el convencional,  $38,19 \mu\text{g CO}_2 \text{ g suelo}^{-1} \text{ h}^{-1}$ .

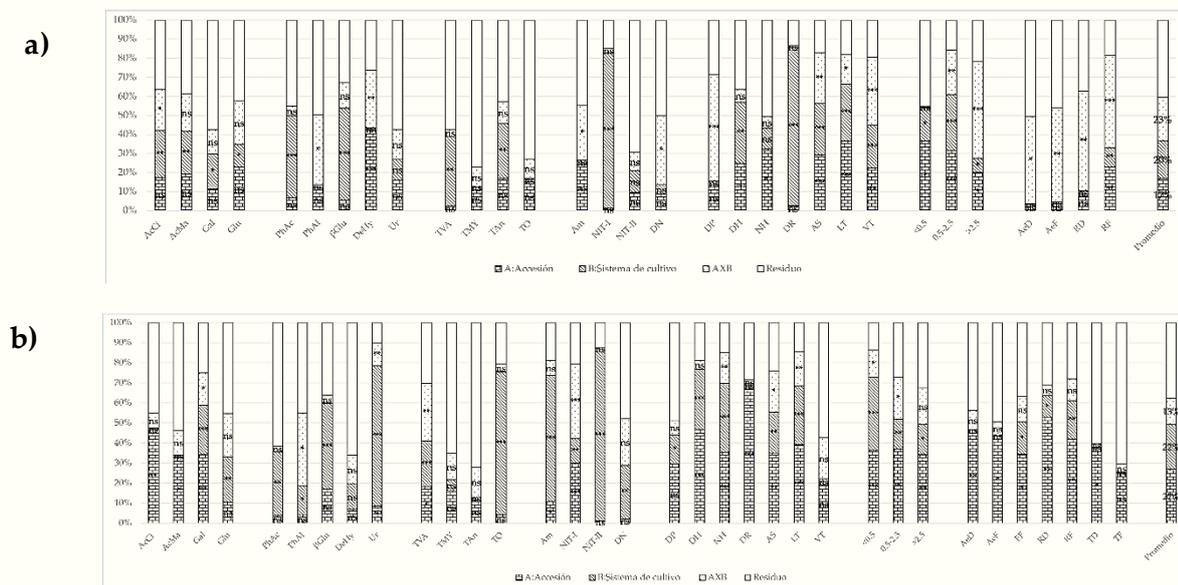


Figura 11. Contribución porcentual de la suma de cuadrados de los efectos del MANOVA para cada caracter. a) en fase vegetativa (T1); b) en fase de fructificación tardía (T2). Porcentaje de la contribución a la varianza de cada efecto: Accesiones y blanco (cuando estaba disponible) (A, patrón de ladrillos), Sistema de cultivo (B, patrón de líneas), interacción A×B (patrón de puntos) y el residuo (blanco sin patrón). Respiración inducida por sustrato: AcCi, AcMa, Gal y Glu; Actividad enzimática: PhAc, PhAl, BGlu, DeHy, y Ur; Conteos microbianos: TVA, TMY, TAn, y TO; Ciclo de nitrógeno: Am, NIT-I, NIT-II, y DN; Caracteres radiculares: DP, DH, NH, DR, AS, LT, VT, y largos por rangos de diámetro:  $\leq 0.5$ ,  $0.5-2.5$ , and  $>2.5$ ; Biomasa: AeD, AeF, FF, RD, RF, TD, y TF; Porcentaje promedio de la suma de cuadrados de los efectos del MANOVA; \* - \*\*\*: p-valores de 0.05-0.001.

La respiración con sustratos de azúcares como Gal y Glu, también fue menor en el campo orgánico que en el convencional ( $1,58 \mu\text{g CO}_2 \text{ g suelo}^{-1} \text{ h}^{-1}$  vs  $2,96 \mu\text{g CO}_2 \text{ g suelo}^{-1} \text{ h}^{-1}$  y  $4,02 \mu\text{g CO}_2 \text{ g suelo}^{-1} \text{ h}^{-1}$  vs  $13,80 \mu\text{g CO}_2 \text{ g suelo}^{-1} \text{ h}^{-1}$ , respectivamente). Ninguna de las accesiones mostró tasas de respiración significativamente diferentes de las mostradas por el suelo control.

En T2, la tendencia para todos los sustratos en el sistema orgánico mostró un ligero aumento con respecto a T1 (Tabla 8), mientras que en el sistema convencional la respiración inducida fue menor en T2 que en T1, especialmente para Gal y Glu. Por lo tanto, la respiración inducida para AcCi y AcMa en T2 no fue significativamente

diferente entre los sistemas de cultivo, pero hubo diferencias significativas para Gal, 01,83  $\mu\text{g CO}_2 \text{ g suelo}^{-1} \text{ h}^{-1}$  en orgánico vs 01,15  $\mu\text{g CO}_2 \text{ g suelo}^{-1} \text{ h}^{-1}$  en convencional, y para Glu, 04,73  $\mu\text{g CO}_2 \text{ g suelo}^{-1} \text{ h}^{-1}$  en orgánico vs 02,61  $\mu\text{g CO}_2 \text{ g suelo}^{-1} \text{ h}^{-1}$  en convencional (Figura 11b, Tabla 8). Curiosamente, en T2 el factor accesión fue el mayor contribuyente a la varianza para AcCi, AcMa y Gal (Figura 11b). Para estas fuentes de carbono, las rizosferas de *Serrano* y *Bola* produjeron cantidades significativamente mayores de  $\text{CO}_2$  que el resto de los accesos tanto en convencional como en orgánico (Tabla 8), y se mantuvieron estables entre etapas fenológicas.

Tabla 8. Valores promedio ( $n = 3$ ) de la respiración inducida por sustrato ( $\mu\text{g CO}_2 \text{ g soil}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ) de muestras de suelo rizosférico y control usando diferentes sustratos: ácido cítrico (AcCi), ácido málico (AcMa), galactosa (Gal), glucosa (Glu), en dos sistemas de cultivo (orgánico; org y convencional; con) en dos tiempos de muestreo (T1: verano, T2: otoño).

Tiempo	Sustrato	Sistema de cult.	BOL-58	Serrano	Bola	Piquillo	Control	Media	
T1	AcCi	Org	08,35 <sup>a</sup>	08,09 <sup>a</sup>	45,82 <sup>b</sup>	15,58 <sup>a</sup>	10,65 <sup>a</sup>	17,70	
		Con	60,92 <sup>ns</sup>	06,17 <sup>ns</sup>	38,19 <sup>ns</sup>	82,02 <sup>ns</sup>	77,80 <sup>ns</sup>	53,02 <sup>*</sup>	
	AcMa	Org	08,86 <sup>a</sup>	08,88 <sup>a</sup>	46,58 <sup>b</sup>	18,66 <sup>a</sup>	24,35 <sup>a</sup>	21,47	
		Con	70,90 <sup>ns</sup>	13,51 <sup>ns</sup>	43,07 <sup>ns</sup>	61,08 <sup>ns</sup>	46,54 <sup>ns</sup>	47,02 <sup>*</sup>	
	Gal	Org	01,69 <sup>ns</sup>	01,66 <sup>ns</sup>	01,89 <sup>ns</sup>	01,36 <sup>ns</sup>	01,29 <sup>ns</sup>	01,58	
		Con	02,75 <sup>ns</sup>	01,07 <sup>ns</sup>	04,02 <sup>ns</sup>	02,91 <sup>ns</sup>	04,06 <sup>ns</sup>	02,96 <sup>*</sup>	
	Glu	Org	03,68 <sup>ns</sup>	04,33 <sup>ns</sup>	04,00 <sup>ns</sup>	03,92 <sup>ns</sup>	04,16 <sup>ns</sup>	04,02	
		Con	06,14 <sup>ns</sup>	02,46 <sup>ns</sup>	12,58 <sup>ns</sup>	07,67 <sup>ns</sup>	40,16 <sup>ns</sup>	13,80 <sup>*</sup>	
	T2	AcCi	Org	25,75 <sup>ab</sup>	58,76 <sup>b</sup>	37,33 <sup>ab</sup>	08,13 <sup>a</sup>	12,24 <sup>a</sup>	28,44 <sup>NS</sup>
			Con	22,62 <sup>ns</sup>	51,84 <sup>ns</sup>	42,64 <sup>ns</sup>	35,99 <sup>ns</sup>	06,87 <sup>ns</sup>	31,99 <sup>NS</sup>
		AcMa	Org	29,80 <sup>ns</sup>	43,62 <sup>ns</sup>	50,53 <sup>ns</sup>	08,06 <sup>ns</sup>	05,51 <sup>ns</sup>	27,50 <sup>NS</sup>

	Con	27,98 <sup>ns</sup>	30,28 <sup>ns</sup>	43,57 <sup>ns</sup>	32,39 <sup>ns</sup>	22,37 <sup>ns</sup>	31,32 <sup>NS</sup>
Gal	Org	01,81 <sup>ns</sup>	01,80 <sup>ns</sup>	02,22 <sup>ns</sup>	01,64 <sup>ns</sup>	01,66 <sup>ns</sup>	01,83 <sup>*</sup>
	Con	01,13 <sup>ab</sup>	02,08 <sup>b</sup>	01,66 <sup>ab</sup>	00,41 <sup>a</sup>	00,47 <sup>a</sup>	01,15
Glu	Org	04,01 <sup>ns</sup>	05,87 <sup>ns</sup>	06,56 <sup>ns</sup>	03,41 <sup>ns</sup>	03,82 <sup>ns</sup>	04,73 <sup>*</sup>
	Con	01,69 <sup>ns</sup>	02,39 <sup>ns</sup>	01,77 <sup>ns</sup>	02,12 <sup>ns</sup>	05,10 <sup>ns</sup>	02,61

\* Valores promedio con diferentes letras minúsculas dentro de cada fila indica diferencias significativas entre suelos rizosféricos y control basado en la prueba de rangos múltiples Student-Newman-Keuls a un valor- $p < 0,05$ . Asterisco en la última columna (media), indica diferencias significativas entre sistemas de cultivo para cada par de datos del mismo sustrato a un valor- $p < 0,05$ .

#### 4.3.1.2. Actividad enzimática del suelo

La actividad enzimática del fosfatasa ácida (PhAc) fue significativamente diferente entre los sistemas de cultivo en ambas etapas fenológicas (Figura 11a y b), siendo los valores medios significativamente más altos en orgánico, 91,09  $\mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$  en T1 y 89,88  $\mu\text{mol p-nitrofenol g suelo}^{-1} \text{h}^{-1}$  en T2, que en convencional; 73,89  $\mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$  y 74,51  $\mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$  en T1 y T2 respectivamente (Tabla 9). No se observaron diferencias significativas entre las rizosferas ni el suelo control para esta actividad enzimática. El caso de la fosfatasa alcalina (PhAl) fue diferente. En T1, el único efecto significativo fue la interacción de accesión  $\times$  sistema de cultivo (Figura 11a), esto se debió principalmente a la mayor actividad de PhAl registrada para la rizosfera de *Serrano* en comparación con el resto de las accesiones o el suelo control en orgánico, 563,92  $\mu\text{mol p-nitrofenol suelo g}^{-1} \text{h}^{-1}$  pero no en convencional, 402,87  $\mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$ . Esta tendencia se mantuvo en T2 con diferencias significativas en la actividad de PhAl de la rizosfera de *Serrano* (569,41  $\mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$  en orgánico). Además, en T2 hubo diferencias significativas entre los sistemas de cultivo para PhAl (485,33  $\mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$  en orgánico y 427  $\mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$  en convencional, Tabla 9).

La actividad de  $\beta$ -glucosidasa ( $\beta\text{Glu}$ ) fue similar en ambos momentos de muestreo, siendo significativamente más alta en el sistema orgánico con 0,72  $\mu\text{mol p-nitrofenol}$

g suelo<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> en T1 y 0,62 μmol g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> en T2 en comparación con el cultivo convencional con 0,42 μmol g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> en T1 y 0,45 μmol g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> en T2. Para esta actividad enzimática no hubo diferencias con respecto a las rizosferas de las accesiones. La actividad de la deshidrogenasa (DeHy) en el suelo fue de alrededor de 1 μmol INTF g suelo<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>. En T1 hubo efectos de interacción de la accesión y la interacción de accesión × sistema de cultivo, principalmente debido a la actividad de DeHy en la rizosfera de *BOL-58* con 1,18 μmol g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> en el campo orgánico, que fue mayor que la de otros genotipos y el suelo control, y por la baja actividad de DeHy en la rizosfera de *Serrano* en el cultivo convencional con 0,78 μmol g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> (Tabla 9). En T2, no hubo efectos significativos. La actividad de la ureasa (Ur) fue de alrededor de 0,165 μmol N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> g suelo<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> en T1 y no hubo diferencias debido al sistema de cultivo o la accesión. Sin embargo, en T2, a pesar de que la actividad fue similar, hubo aumentos para todas las accesiones y el suelo control, y diferencias significativas entre los dos sistemas de cultivo (0,36 μmol g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> en orgánico y 0,20 μmol g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> en convencional). Para la accesión, la actividad de Ur en la rizosfera de *Bola* fue mayor que el resto en el cultivo orgánico con 0,47 μmol g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> (Tabla 9).

Tabla 9. Valores promedio ( $n = 3$ ) de la actividad enzimática de muestras de suelo rizosférico y control de fosfatasa ácida (PhAc, μmol *p*-nitrofenol g suelo<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>), fosfatasa alcalina (PhAl, μmol *p*-nitrofenol g suelo<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>), β-glucosidasa (βGlu, μmol *p*-nitrofenol g suelo<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>), deshidrogenasa (DeHy, μmol INTF g suelo<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>), y ureasa (Ur, μmol N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> g suelo<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>), en dos sistemas de cultivo (orgánico; org y convencional; con) en dos tiempos de muestreo (T1: verano, T2: otoño).

Tiempo	Enzima	Sistema de cult	<i>BOL-58</i>	<i>Serrano</i>	<i>Bola</i>	<i>Piquillo</i>	Control	Media
T1	PhAc	Org	90,16 <sup>ns</sup>	89,34 <sup>ns</sup>	98,49 <sup>ns</sup>	87,59 <sup>ns</sup>	89,85 <sup>ns</sup>	91,09 <sup>*</sup>
		Con	76,15 <sup>ns</sup>	65,68 <sup>ns</sup>	76,81 <sup>ns</sup>	80,23 <sup>ns</sup>	70,56 <sup>ns</sup>	73,89
	PhAl	Org	455,69 <sup>a</sup>	563,92 <sup>b</sup>	450,40 <sup>a</sup>	429,01 <sup>a</sup>	467,92 <sup>a</sup>	473,39 <sup>NS</sup>
		Con	460,04 <sup>ns</sup>	402,87 <sup>ns</sup>	435,10 <sup>ns</sup>	459,57 <sup>ns</sup>	526,41 <sup>ns</sup>	456,80 <sup>NS</sup>
	βGlu	Org	00,72 <sup>ns</sup>	00,61 <sup>ns</sup>	00,80 <sup>ns</sup>	00,68 <sup>ns</sup>	00,79 <sup>ns</sup>	00,72 <sup>*</sup>
		Con	00,40 <sup>ns</sup>	00,60 <sup>ns</sup>	00,55 <sup>ns</sup>	00,44 <sup>ns</sup>	00,39 <sup>ns</sup>	00,48

DeHy	Org	01,18 <sup>b</sup>	00,95 <sup>a</sup>	00,91 <sup>a</sup>	00,99 <sup>a</sup>	00,94 <sup>a</sup>	00,99 <sup>NS</sup>
	Con	01,08 <sup>b</sup>	00,78 <sup>a</sup>	01,14 <sup>b</sup>	01,07 <sup>b</sup>	01,02 <sup>b</sup>	01,02 <sup>NS</sup>
Ur	Org	00,16 <sup>ns</sup>	00,17 <sup>ns</sup>	00,17 <sup>ns</sup>	00,18 <sup>ns</sup>	00,20 <sup>ns</sup>	00,18 <sup>NS</sup>
	Con	00,14 <sup>ns</sup>	00,13 <sup>ns</sup>	00,15 <sup>ns</sup>	00,20 <sup>ns</sup>	00,14 <sup>ns</sup>	00,15 <sup>NS</sup>
PhAc	Org	93,99 <sup>ns</sup>	85,00 <sup>ns</sup>	95,04 <sup>ns</sup>	87,75 <sup>ns</sup>	87,60 <sup>ns</sup>	89,88 <sup>*</sup>
	Con	76,11 <sup>ns</sup>	69,38 <sup>ns</sup>	72,79 <sup>ns</sup>	76,03 <sup>ns</sup>	78,22 <sup>ns</sup>	74,51
PhAl	Org	477,13 <sup>a</sup>	569,41 <sup>b</sup>	472,26 <sup>a</sup>	449,11 <sup>a</sup>	458,76 <sup>a</sup>	485,33 <sup>*</sup>
	Con	406,98 <sup>ns</sup>	350,58 <sup>ns</sup>	420,99 <sup>ns</sup>	447,58 <sup>ns</sup>	510,30 <sup>ns</sup>	427,29
T2	βGlu	00,62 <sup>ns</sup>	00,70 <sup>ns</sup>	00,67 <sup>ns</sup>	00,60 <sup>ns</sup>	00,52 <sup>ns</sup>	00,62 <sup>*</sup>
	Con	00,53 <sup>ns</sup>	00,43 <sup>ns</sup>	00,50 <sup>ns</sup>	00,44 <sup>ns</sup>	00,34 <sup>ns</sup>	00,45
DeHy	Org	01,04 <sup>ns</sup>	00,94 <sup>ns</sup>	00,96 <sup>ns</sup>	00,99 <sup>ns</sup>	00,98 <sup>ns</sup>	00,98 <sup>NS</sup>
	Con.	01,02 <sup>ns</sup>	01,03 <sup>ns</sup>	01,14 <sup>ns</sup>	00,99 <sup>ns</sup>	01,07 <sup>ns</sup>	01,05 <sup>NS</sup>
Ur	Org.	00,31 <sup>a</sup>	00,36 <sup>a</sup>	00,47 <sup>b</sup>	00,35 <sup>a</sup>	00,30 <sup>a</sup>	00,36 <sup>*</sup>
	Con.	00,23 <sup>ns</sup>	00,19 <sup>ns</sup>	00,19 <sup>ns</sup>	00,20 <sup>ns</sup>	00,18 <sup>ns</sup>	00,20

\* Valores promedio con diferentes letras minúsculas dentro de cada fila indica diferencias significativas entre suelos rizosféricos y control basado en la prueba de rangos múltiples Student-Newman-Keuls a un valor- $p < 0,05$ . Asterisco en la última columna (media), indica diferencias significativas entre sistemas de cultivo para cada par de datos del mismo sustrato a un valor- $p < 0,05$ .

#### 4.3.1.3. Recuentos microbianos

En T1, los recuentos de bacterias aeróbicas mesofílicas viables totales (TVA) y los recuentos de bacterias anaeróbicas totales (TAn) difirieron significativamente según el sistema de cultivo (Figura 11a). Las medias más altas se observaron en el

cultivo orgánico con 7,40 log UFC g suelo<sup>-1</sup> para TVA y 6,45 log UFC g suelo<sup>-1</sup> para TAn (Tabla 10). Para el recuento total de mohos y levaduras (TMY) y para el recuento total de bacterias oligotróficas (TO) no se observaron efectos ni diferencias significativas entre sistemas ni entre las rizosferas de las accesiones o el suelo control, siendo el recuento promedio para mohos y levaduras de 5,56 log UFC g suelo<sup>-1</sup> y el recuento promedio para bacterias oligotróficas de 7,27 log UFC g suelo<sup>-1</sup>. En T2, la diferencia entre los sistemas para TVA se mantuvo como en T1 (Figura 11b, Tabla 10). Pero en este período también hubo efectos significativos de la accesión y la interacción entre la accesión y el sistema. La rizosfera de *Serrano* en el sistema convencional (7,79 log UFC g suelo<sup>-1</sup>) tuvo recuentos más altos de bacterias viables que la rizosfera de *Piquillo* (6,76 log UFC g suelo<sup>-1</sup>) (Tabla 10). No se observaron diferencias debidas a los sistemas de cultivo, ni a las rizosferas o al suelo control en T2 para TMY (5,21 log UFC g suelo<sup>-1</sup>) y para TAn (5,92 log UFC g suelo<sup>-1</sup>). Es interesante señalar que el TAn fue menor en T2 en el cultivo orgánico, pero no en el convencional. Finalmente, TO mostró diferencias significativas entre sistemas (Figura 11b, Tabla 10) en T2. En este caso, el sistema convencional mostró recuentos más bajos (6,66 log UFC g suelo<sup>-1</sup>) en comparación con el sistema orgánico o los valores registrados en T1.

Tabla 10. Valores promedio ( $n = 3$ ) de los recuentos microbianos (log UFC g suelo<sup>-1</sup>) de muestras de suelo rizosférico y control usando diferentes medios de crecimiento: recuento total de bacterias aerobias mesófilas viables (TVA), recuento total de mohos y levaduras (TMY), recuento total de bacterias anaerobias estrictas (TAn), recuento total de bacterias oligotróficas (TO), en dos sistemas de cultivo (orgánico; org y convencional; con) en dos tiempos de muestreo (T1: verano, T2: otoño).

	Tiempo	Medio de crec.	Sistema de cult.	BOL-58	<i>Serrano</i>	<i>Bola</i>	<i>Piquillo</i>	Control	Media
TVA		Org		7,34 <sup>ns</sup>	7,51 <sup>ns</sup>	7,53 <sup>ns</sup>	7,37 <sup>ns</sup>	7,27 <sup>ns</sup>	7,40 <sup>*</sup>
		Con		6,88 <sup>ns</sup>	7,00 <sup>ns</sup>	6,78 <sup>ns</sup>	7,04 <sup>ns</sup>	6,89 <sup>ns</sup>	6,92
	T1	Org		8,30 <sup>ns</sup>	4,67 <sup>ns</sup>	5,57 <sup>ns</sup>	5,12 <sup>ns</sup>	4,45 <sup>ns</sup>	5,62 <sup>NS</sup>
		Con		5,64 <sup>ns</sup>	5,78 <sup>ns</sup>	5,59 <sup>ns</sup>	5,06 <sup>ns</sup>	5,40 <sup>ns</sup>	5,50 <sup>NS</sup>

TAn	Org	7,29 <sup>ns</sup>	5,98 <sup>ns</sup>	6,67 <sup>ns</sup>	6,57 <sup>ns</sup>	5,74 <sup>ns</sup>	6,45 <sup>*</sup>
	Con	5,64 <sup>ns</sup>	5,69 <sup>ns</sup>	5,53 <sup>ns</sup>	5,90 <sup>ns</sup>	5,39 <sup>ns</sup>	5,63
TO	Org	7,18 <sup>ns</sup>	7,33 <sup>ns</sup>	7,55 <sup>ns</sup>	7,33 <sup>ns</sup>	7,23 <sup>ns</sup>	7,33 <sup>NS</sup>
	Con	7,18 <sup>ns</sup>	7,49 <sup>ns</sup>	7,38 <sup>ns</sup>	6,76 <sup>ns</sup>	7,24 <sup>ns</sup>	7,21 <sup>NS</sup>
TVA	Org	7,62 <sup>ns</sup>	7,40 <sup>ns</sup>	7,43 <sup>ns</sup>	7,46 <sup>ns</sup>	7,36 <sup>ns</sup>	7,45 <sup>*</sup>
	Con	6,19 <sup>a</sup>	7,79 <sup>b</sup>	7,05 <sup>ab</sup>	6,42 <sup>a</sup>	7,01 <sup>ab</sup>	6,89
TMY	Org	4,76 <sup>ns</sup>	5,47 <sup>ns</sup>	5,43 <sup>ns</sup>	5,33 <sup>ns</sup>	5,44 <sup>ns</sup>	5,33 <sup>NS</sup>
	Con	5,10 <sup>ns</sup>	5,32 <sup>ns</sup>	5,11 <sup>ns</sup>	5,05 <sup>ns</sup>	4,97 <sup>ns</sup>	5,11 <sup>NS</sup>
TAn	Org	5,81 <sup>ns</sup>	5,66 <sup>ns</sup>	6,18 <sup>ns</sup>	5,82 <sup>ns</sup>	5,68 <sup>ns</sup>	5,83 <sup>NS</sup>
	Con	5,42 <sup>ns</sup>	6,86 <sup>ns</sup>	6,13 <sup>ns</sup>	5,68 <sup>ns</sup>	5,94 <sup>ns</sup>	6,01 <sup>NS</sup>
TO	Org	7,41 <sup>ns</sup>	7,29 <sup>ns</sup>	7,19 <sup>ns</sup>	7,31 <sup>ns</sup>	7,22 <sup>ns</sup>	7,28 <sup>*</sup>
	Con	6,73 <sup>ns</sup>	6,58 <sup>ns</sup>	6,85 <sup>ns</sup>	6,64 <sup>ns</sup>	6,48 <sup>ns</sup>	6,66

\* Valores promedio con diferentes letras minúsculas dentro de cada fila indica diferencias significativas entre suelos rizosféricos y control basado en la prueba de rangos múltiples Student-Newman-Keuls a un valor- $p < 0,05$ . Asterisco en la última columna (media), indica diferencias significativas entre sistemas de cultivo para cada par de datos del mismo sustrato a un valor- $p < 0,05$ .

#### 4.3.1.4. Catabolismo potencial del nitrógeno (ciclo de nitrógeno)

En T1, la amonificación (Am) tuvo una interacción entre la accesión y el sistema de cultivo como único efecto significativo (Figura 11a), principalmente debido a la rizosfera de *Piquillo* que en el campo convencional ( $310,4 \text{ mg NH}_4\text{-N g}^{-1}$ ) mostró una tasa más alta de amonificación en comparación con las demás, contraviniendo la tendencia general de tener un mayor potencial de amonificación en el sistema orgánico (Tabla 11). En T1, el potencial de nitrificación I (NIT-I) fue significativamente mayor en el campo orgánico ( $20,27 \text{ mg NO}_2\text{-N g}^{-1}$ ) que en el convencional ( $2,56 \text{ mg}$

NO<sub>2</sub>-N g<sup>-1</sup>). No se encontraron diferencias entre las muestras para la nitrificación II (NIT-II), siendo el promedio en este T1 de 20,34 mg NO<sub>3</sub>-N g<sup>-1</sup>. Para la desnitrificación potencial (DN), no hubo diferencias significativas entre las muestras, siendo el promedio de 2,8.

En T2, todos los parámetros del ciclo del nitrógeno mostraron diferencias entre los sistemas de cultivo, con una actividad más alta en el campo orgánico, menos para DN, que tuvo niveles más altos en el campo convencional (Figura 11b, Tabla 11). De manera interesante, nuevamente la rizosfera de *Piquillo* en el cultivo convencional mostró la Am más alta entre las accesiones y el suelo control (31,04 mg NH<sub>4</sub>-N g<sup>-1</sup>). Para NIT-I, los valores generales fueron muy bajos, oscilando entre 0,15 y 0,76 mg NO<sub>2</sub>-N g<sup>-1</sup>, destacándose los valores de la rizosfera de *Bola* con valores de 2,53 mg NO<sub>2</sub>-N g<sup>-1</sup>, aunque este valor es más bajo que en T1. Por último, en T2 hubo diferencias significativas para los niveles de DN, siendo más altos en el campo convencional (Tabla 11).

Tabla 11. Valores promedio ( $n = 3$ ) de los productos de catabolismo potencial del nitrógeno de muestras de suelo rizosférico y control para potencial de amonificación (Am, mg NH<sub>4</sub>-N g<sup>-1</sup>), potencial de nitrificación I (NIT-I, mg NO<sub>2</sub>-N g<sup>-1</sup>), potencial de nitrificación II (NIT-II, mg NO<sub>3</sub>-N g<sup>-1</sup>), potencial de desnitrificación (DN, escala 0-4), en dos sistemas de cultivo (orgánico; org y convencional; con) en dos tiempos de muestreo (T1: verano, T2: otoño).

Tiempo	Fase del ciclo N <sub>2</sub>	Sistema de cult.	BOL-58	Serrano	Bola	Piquillo	Control	Media
T1	Am	Org	232,8 <sup>ns</sup>	119 <sup>ns</sup>	206,9 <sup>rs</sup>	144,8 <sup>ns</sup>	75,0 <sup>ns</sup>	155,7 <sup>NS</sup>
		Con	100,9 <sup>a</sup>	119 <sup>a</sup>	31,0 <sup>a</sup>	310,4 <sup>b</sup>	51,7 <sup>a</sup>	122,6 <sup>NS</sup>
	NIT-I	Org	24,32 <sup>ns</sup>	16,21 <sup>ns</sup>	20,27 <sup>rs</sup>	20,27 <sup>ns</sup>	20,27 <sup>ns</sup>	20,27 <sup>*</sup>
		Con	2,28 <sup>ns</sup>	3,24 <sup>ns</sup>	1,72 <sup>ns</sup>	2,03 <sup>ns</sup>	3,55 <sup>ns</sup>	2,56
	NIT-II	Org	22,60 <sup>ns</sup>	15,07 <sup>ns</sup>	18,83 <sup>rs</sup>	18,83 <sup>ns</sup>	18,83 <sup>ns</sup>	18,83 <sup>NS</sup>
		Con	22,60 <sup>ns</sup>	22,60 <sup>ns</sup>	18,83 <sup>rs</sup>	22,60 <sup>ns</sup>	22,60 <sup>ns</sup>	21,85 <sup>NS</sup>
DN	Org	2,50 <sup>ns</sup>	3,33 <sup>ns</sup>	1,00 <sup>ns</sup>	2,33 <sup>ns</sup>	3,67 <sup>ns</sup>	2,57 <sup>NS</sup>	

	Con	3,50 <sup>ns</sup>	2,67 <sup>ns</sup>	3,33 <sup>ns</sup>	3,33 <sup>ns</sup>	2,33 <sup>ns</sup>	3,03 <sup>ns</sup>
Am	Org	77,60 <sup>ns</sup>	38,80 <sup>ns</sup>	77,60 <sup>ns</sup>	67,25 <sup>ns</sup>	103,5 <sup>ns</sup>	72,94 <sup>*</sup>
	Con	6,73 <sup>a</sup>	3,10 <sup>a</sup>	4,91 <sup>a</sup>	31,04 <sup>b</sup>	15,52 <sup>a</sup>	12,26
NIT-I	Org	0,20 <sup>a</sup>	0,76 <sup>a</sup>	2,53 <sup>b</sup>	0,20 <sup>a</sup>	0,20 <sup>a</sup>	0,78 <sup>*</sup>
	Con	0,15 <sup>ns</sup>	0,22 <sup>ns</sup>	0,15 <sup>ns</sup>	0,30 <sup>ns</sup>	0,35 <sup>ns</sup>	0,24
NIT-II	Org	18,83 <sup>ns</sup>	16,95 <sup>ns</sup>	18,83 <sup>ns</sup>	18,83 <sup>ns</sup>	22,60 <sup>ns</sup>	19,21 <sup>*</sup>
	Con	1,51 <sup>ns</sup>	1,88 <sup>ns</sup>	2,26 <sup>ns</sup>	2,26 <sup>ns</sup>	2,26 <sup>ns</sup>	2,03
DN	Org	1,33 <sup>ns</sup>	2,50 <sup>ns</sup>	1,67 <sup>ns</sup>	1,00 <sup>ns</sup>	2,33 <sup>ns</sup>	1,77
	Con	3,00 <sup>ns</sup>	2,00 <sup>ns</sup>	3,67 <sup>ns</sup>	3,67 <sup>ns</sup>	2,67 <sup>ns</sup>	3,00 <sup>*</sup>

\* Valores promedio con diferentes letras minúsculas dentro de cada fila indica diferencias significativas entre suelos rizosféricos y control basado en la prueba de rangos múltiples Student-Newman-Keuls a un valor- $p < 0,05$ . Asterisco en la última columna (media), indica diferencias significativas entre sistemas de cultivo para cada par de datos del mismo sustrato a un valor- $p < 0,05$ .

#### 4.3.2. Caracteres vegetales

##### 4.3.2.1. Biomasa y rendimiento

En T1, hubo efectos significativos de la interacción acceso  $\times$  sistema para todos los caracteres de biomasa (Figura 11a). Para los campos orgánicos, *BOL-58* y *Serrano* siempre tuvieron la parte aérea más pesada (AeD para materia seca y AeF para materia fresca) y raíces más pesadas (RD para materia seca y RF para materia fresca); para el campo convencional, *Bola* y *Piquillo* fueron los más pesados y significativamente diferentes (Tabla 12).

En T2, hubo diferencias significativas entre las accesiones para casi todos los caracteres de biomasa (Figura 11b, Tabla 12). *BOL-58* destacó por su gran crecimiento de la parte aérea (AeF de 1103 g en orgánico y 1533 g en convencional), mientras que *Serrano* tuvo

el sistema de raíces más pesado (RF de 33,69 g en orgánico y 23,9 g en convencional). No hubo diferencias significativas en el desarrollo de las partes aéreas de las accesiones según el sistema de cultivo (Figura 11b, Tabla 12), sin embargo, las raíces de todos los genotipos fueron más pesadas en el campo orgánico que en el convencional (Tabla 12). Contrariamente, el rendimiento total (FF) fue mayor en convencional que en orgánico para las accesiones evaluadas, excepto para *Serrano*. No hubo diferencias significativas en el peso del tocón (TD para materia seca y TF para materia fresca) en ninguna accesión o sistema de cultivo (Figura 11b, Tabla 12), pero *Serrano* tuvo los valores más altos como se observó con el peso de las raíces.

Tabla 12. Valores promedio ( $n = 3$ ) de las variables de biomasa y rendimiento (g) de las accesiones: parte aérea peso seco (AeD), parte aérea peso fresco (AeF), raíces peso seco (RD), raíces peso fresco (RF), frutos peso fresco (FF), tocón peso seco (TD), tocón peso fresco (TF), en dos sistemas de cultivo (orgánico; org y convencional; con) en dos tiempos de muestreo (T1: verano, T2: otoño).

Tiempo	Biomasa	Sistema de cult.	<i>BOL-58</i>	<i>Serrano</i>	<i>Bola</i>	<i>Piquillo</i>	Media	
T1	AeD	Org	15,40 <sup>ns</sup>	14,74 <sup>ns</sup>	9,73 <sup>ns</sup>	8,69 <sup>ns</sup>	12,14 <sup>NS</sup>	
		Con	5,97 <sup>ns</sup>	7,95 <sup>ns</sup>	17,27 <sup>ns</sup>	15,91 <sup>ns</sup>	11,78 <sup>NS</sup>	
	AeF	Org	106,15 <sup>ns</sup>	84,86 <sup>ns</sup>	56,36 <sup>ns</sup>	49,56 <sup>ns</sup>	74,23 <sup>NS</sup>	
		Con	44,85 <sup>ns</sup>	48,75 <sup>ns</sup>	118,65 <sup>ns</sup>	116,83 <sup>ns</sup>	82,27 <sup>NS</sup>	
	RD	Org	1,79 <sup>ns</sup>	1,98 <sup>ns</sup>	1,35 <sup>ns</sup>	1,22 <sup>ns</sup>	1,58 <sup>NS</sup>	
		Org	0,83 <sup>a</sup>	0,69 <sup>a</sup>	2,24 <sup>b</sup>	1,85 <sup>b</sup>	1,40 <sup>NS</sup>	
	RF	Org	7,98 <sup>ns</sup>	10,72 <sup>ns</sup>	6,94 <sup>ns</sup>	5,48 <sup>ns</sup>	7,78	
		Con	4,90 <sup>a</sup>	4,84 <sup>a</sup>	21,49 <sup>b</sup>	15,63 <sup>b</sup>	11,72 <sup>*</sup>	
	T2	AeD	Org	239,67 <sup>ns</sup>	329,00 <sup>ns</sup>	117,67 <sup>ns</sup>	175,00 <sup>ns</sup>	215,3 <sup>NS</sup>
			Con	369,33 <sup>b</sup>	262,00 <sup>ab</sup>	112,33 <sup>a</sup>	122,67 <sup>a</sup>	216,6 <sup>NS</sup>

AeF	Org	1103,7 <sup>ns</sup>	1173,0 <sup>ns</sup>	407,00 <sup>ns</sup>	723,33 <sup>ns</sup>	851,7 <sup>NS</sup>
	Con	1533,00 <sup>b</sup>	883,00 <sup>ab</sup>	471,18 <sup>a</sup>	574,57 <sup>a</sup>	865,4 <sup>NS</sup>
RD	Org	7,60 <sup>ns</sup>	15,06 <sup>ns</sup>	3,45 <sup>ns</sup>	12,13 <sup>ns</sup>	9,56 <sup>*</sup>
	Con	6,30 <sup>b</sup>	10,66 <sup>c</sup>	2,62 <sup>a</sup>	5,68 <sup>b</sup>	6,32
RF	Org	19,91 <sup>ab</sup>	33,69 <sup>ab</sup>	13,43 <sup>a</sup>	43,68 <sup>b</sup>	27,68 <sup>*</sup>
	Con	14,83 <sup>ab</sup>	23,90 <sup>b</sup>	9,64 <sup>a</sup>	18,86 <sup>ab</sup>	16,80
FF	Org	557,00 <sup>ns</sup>	1849,0 <sup>ns</sup>	419,33 <sup>ns</sup>	714,67 <sup>ns</sup>	885,0
	Con	1047,4 <sup>ns</sup>	1629,5 <sup>ns</sup>	1261,0 <sup>ns</sup>	1657,3 <sup>ns</sup>	1398,8 <sup>*</sup>
TD	Org	17,61 <sup>ns</sup>	25,10 <sup>ns</sup>	10,89 <sup>ns</sup>	19,45 <sup>ns</sup>	18,26 <sup>NS</sup>
	Con	16,48 <sup>ns</sup>	26,41 <sup>ns</sup>	15,24 <sup>ns</sup>	19,84 <sup>ns</sup>	19,49 <sup>NS</sup>
TF	Org	47,94 <sup>ns</sup>	69,60 <sup>ns</sup>	35,82 <sup>ns</sup>	58,58 <sup>ns</sup>	52,99 <sup>NS</sup>
	Con	44,72 <sup>ns</sup>	65,79 <sup>ns</sup>	52,14 <sup>ns</sup>	61,64 <sup>ns</sup>	56,08 <sup>NS</sup>

\* Valores promedio con diferentes letras minúsculas dentro de cada fila indica diferencias significativas entre suelos rizosféricos y control basado en la prueba de rangos múltiples Student-Newman-Keuls a un valor- $p < 0,05$ . Asterisco en la última columna (media), indica diferencias significativas entre sistemas de cultivo para cada par de datos del mismo sustrato a un valor- $p < 0,05$ .

#### 4.3.2.2. Parámetros de raíces.

En el T1, hubo diferencias significativas en las raíces entre las accesiones, pero en la mayoría de los casos también hubo diferencias debido al sistema de cultivo y en algunos casos hubo interacciones (Figura 11a). La tendencia general según el sistema de cultivo fue que las raíces fueran más ramificadas (0,95 bifurcaciones  $\text{cm}^{-1}$ ) y densas (0,33  $\text{g cm}^{-3}$ ) en el cultivo orgánico que en el convencional (Tabla 13), pero más cortas y con menos volumen. Sin embargo, las raíces de las plantas que crecieron en el sistema orgánico mostraron mayor longitud de raíces con diámetro superior a 2,5 mm (clase >2,5).

En cuanto al rendimiento de las variedades en T1, *Bola* y *Piquillo* mostraron raíces más largas (LT, 2356 cm y 1650 cm, respectivamente) y más voluminosas con mayor número de bifurcaciones que las otras variedades, especialmente en condiciones convencionales (NH, Tabla 13) en el campo convencional. *Serrano* destacó por su gran diámetro de raíz (DP: 1,06 mm), mostrando mayor longitud de raíces más gruesas (>2,5: 25,11 cm) en el cultivo orgánico.

En el T2, la situación fue diferente y en este caso se observaron valores más altos no solo para los parámetros de ramificación (DH, NH), sino también para la longitud (LT, >0,5, 0,5-2,5, >2,5), el volumen de raíz (VT, cm<sup>3</sup>) y el área superficial de la raíz (AS, cm<sup>2</sup>) en el cultivo orgánico (Tabla 13). También hubo diferencias entre variedades y la interacción variedad × sistema de cultivo. En este momento, *Piquillo* fue el mejor en términos de longitud de raíz (LT) y ramificación (NH), sin embargo, estos valores superiores fueron más acentuados en el cultivo orgánico. De nuevo, como sucedió en T1, *Serrano* mostró un gran diámetro de raíz (DP) y raíces más gruesas (>2,5).

Tabla 13. Valores promedio ( $n = 3$ ) de las variables radicales de las accesiones: diámetro promedio (DP, mm), densidad de bifurcaciones como el número total de horquillas dividido entre el largo total (DH, cm<sup>-1</sup>), número de horquillas (NH, número), densidad de raíces (DR, g cm<sup>-3</sup>), área superficial (AS, cm<sup>2</sup>), largo total (LT, cm), volumen total (VT, cm<sup>3</sup>), largo total de raíces con un diámetro menor a 0,5 mm (< 0,5, cm), largo total de raíces con un diámetro entre 0,5 mm y 2,5 mm (0,5-2,5, cm), largo total de raíces con un diámetro mayor a 2,5 mm (>2,5, mm), en dos sistemas de cultivo (orgánico; org y convencional; con) en dos tiempos de muestreo (T1: verano, T2: otoño).

Tiempo	Med. raíces	Sistema de cult	BOL-58	<i>Serrano</i>	<i>Bola</i>	<i>Piquillo</i>	Media
T1	DP	Org	0,88 <sup>a</sup>	1,06 <sup>b</sup>	0,77 <sup>a</sup>	0,80 <sup>a</sup>	0,88 <sup>NS</sup>
		Con	0,75 <sup>NS</sup>	0,79 <sup>NS</sup>	0,88 <sup>NS</sup>	0,96 <sup>NS</sup>	0,85 <sup>NS</sup>
	DH	Org	01,08 <sup>NS</sup>	00,84 <sup>NS</sup>	00,93 <sup>NS</sup>	00,94 <sup>NS</sup>	00,95 <sup>*</sup>
		Con	00,90 <sup>b</sup>	00,76 <sup>ab</sup>	00,59 <sup>a</sup>	00,74 <sup>ab</sup>	00,75
	NH	Org	896,50 <sup>NS</sup>	539,00 <sup>NS</sup>	1001,00 <sup>NS</sup>	715,33 <sup>NS</sup>	787,96 <sup>NS</sup>
		Con	987,00 <sup>ab</sup>	588,00 <sup>a</sup>	1375,67 <sup>b</sup>	1230,67 <sup>b</sup>	1045,33 <sup>NS</sup>

	DR	Org	0,36 <sup>ns</sup>	0,35 <sup>ns</sup>	0,30 <sup>ns</sup>	0,31 <sup>ns</sup>	0,33 <sup>*</sup>
		Con	0,16 <sup>ns</sup>	0,17 <sup>ns</sup>	0,15 <sup>ns</sup>	0,16 <sup>ns</sup>	0,16
	AS	Org	229,96 <sup>ns</sup>	214,40 <sup>ns</sup>	249,69 <sup>ns</sup>	182,88 <sup>ns</sup>	219,23
		Con	263,43 <sup>a</sup>	190,60 <sup>a</sup>	658,16 <sup>b</sup>	499,66 <sup>b</sup>	402,96 <sup>*</sup>
	LT	Org	827,97 <sup>ns</sup>	634,98 <sup>ns</sup>	1042,61 <sup>ns</sup>	728,04 <sup>ns</sup>	808,40
		Con	1097,45 <sup>a</sup>	767,85 <sup>a</sup>	2356,56 <sup>c</sup>	1650,75 <sup>b</sup>	1468,15 <sup>*</sup>
	VT	Org	5,09 <sup>ns</sup>	5,85 <sup>ns</sup>	4,76 <sup>ns</sup>	3,70 <sup>ns</sup>	4,85
		Con	5,15 <sup>a</sup>	3,80 <sup>a</sup>	14,91 <sup>b</sup>	12,20 <sup>b</sup>	9,01 <sup>*</sup>
	<0,5	Org	411,63 <sup>ns</sup>	258,57 <sup>ns</sup>	558,74 <sup>ns</sup>	353,67 <sup>ns</sup>	395,65
		Con	550,34 <sup>ab</sup>	386,05 <sup>a</sup>	732,84 <sup>b</sup>	550,65 <sup>ab</sup>	554,97 <sup>*</sup>
	0,5-2,5	Org	403,25 <sup>ns</sup>	350,15 <sup>ns</sup>	473,91 <sup>ns</sup>	365,93 <sup>ns</sup>	398,31
		Con	539,32 <sup>a</sup>	374,29 <sup>a</sup>	1608,41 <sup>c</sup>	1088,20 <sup>b</sup>	902,56 <sup>*</sup>
	>2,5	Org	12,43 <sup>a</sup>	25,11 <sup>b</sup>	07,62 <sup>a</sup>	06,78 <sup>a</sup>	12,98 <sup>*</sup>
		Con	06,43 <sup>a</sup>	07,32 <sup>a</sup>	13,29 <sup>b</sup>	10,79 <sup>ab</sup>	09,45
	DP	Org	0,77 <sup>a</sup>	0,99 <sup>b</sup>	0,69 <sup>a</sup>	0,81 <sup>a</sup>	0,82
		Con	0,93 <sup>ns</sup>	1,06 <sup>ns</sup>	0,93 <sup>ns</sup>	0,83 <sup>ns</sup>	0,94 <sup>*</sup>
T2	DH	Org	01,84 <sup>b</sup>	01,15 <sup>a</sup>	01,63 <sup>b</sup>	01,60 <sup>b</sup>	01,56 <sup>*</sup>
		Con	01,60 <sup>b</sup>	00,87 <sup>a</sup>	01,01 <sup>a</sup>	01,14 <sup>a</sup>	01,15
	NH	Org	5567,33 <sup>a</sup>	2408,50 <sup>a</sup>	4940,33 <sup>a</sup>	9037,67 <sup>b</sup>	5488,46 <sup>*</sup>
		Con	3913,67 <sup>ns</sup>	1373,50 <sup>ns</sup>	1759,33 <sup>ns</sup>	2862,00 <sup>ns</sup>	2477,13

DR	Org	0,50 <sup>a</sup>	0,88 <sup>b</sup>	0,28 <sup>a</sup>	0,40 <sup>a</sup>	0,52 <sup>NS</sup>
	Con	0,40 <sup>a</sup>	0,74 <sup>b</sup>	0,29 <sup>a</sup>	0,40 <sup>a</sup>	0,45 <sup>NS</sup>
AS	Org	742,55 <sup>a</sup>	645,90 <sup>a</sup>	668,90 <sup>a</sup>	1450,86 <sup>b</sup>	877,05 <sup>*</sup>
	Con	695,48 <sup>NS</sup>	506,02 <sup>NS</sup>	465,67 <sup>NS</sup>	646,71 <sup>NS</sup>	578,47
LT	Org	2976,85 <sup>a</sup>	2102,00 <sup>a</sup>	3034,65 <sup>a</sup>	5622,49 <sup>b</sup>	3434,00 <sup>*</sup>
	Con	2449,62 <sup>NS</sup>	1554,31 <sup>NS</sup>	1592,53 <sup>NS</sup>	2452,94 <sup>NS</sup>	2012,35
VT	Org	14,88 <sup>a</sup>	16,51 <sup>a</sup>	12,17 <sup>a</sup>	30,60 <sup>b</sup>	18,54 <sup>NS</sup>
	Con	22,23 <sup>NS</sup>	14,40 <sup>NS</sup>	10,97 <sup>NS</sup>	14,62 <sup>NS</sup>	15,56 <sup>NS</sup>
<0,5	Org	1860,15 <sup>a</sup>	1212,32 <sup>a</sup>	1935,92 <sup>a</sup>	3267,68 <sup>b</sup>	2069,02 <sup>*</sup>
	Con	1378,57 <sup>NS</sup>	841,44 <sup>NS</sup>	702,66 <sup>NS</sup>	1426,58 <sup>NS</sup>	1087,31
0,5-2,5	Org	1006,41 <sup>a</sup>	771,91 <sup>a</sup>	1020,79 <sup>a</sup>	2151,75 <sup>b</sup>	1237,71 <sup>*</sup>
	Con	997,92 <sup>NS</sup>	580,75 <sup>NS</sup>	839,86 <sup>NS</sup>	937,97 <sup>NS</sup>	839,12
>2,5	Org	107,48 <sup>ab</sup>	117,57 <sup>ab</sup>	74,77 <sup>a</sup>	198,18 <sup>b</sup>	124,50 <sup>*</sup>
	Con	69,95 <sup>ab</sup>	129,53 <sup>b</sup>	48,82 <sup>a</sup>	85,88 <sup>ab</sup>	83,55

\* Valores promedio con diferentes letras minúsculas dentro de cada fila indica diferencias significativas entre suelos rizosféricos y control basado en la prueba de rangos múltiples Student-Newman-Keuls a un valor- $p < 0,05$ . Asterisco en la última columna (media), indica diferencias significativas entre sistemas de cultivo para cada par de datos del mismo sustrato a un valor- $p < 0,05$ .

#### 4.3.3. Correlaciones y Análisis factorial exploratorio.

##### 4.3.3.1. Correlaciones entre caracteres de raíz, biomasa y rizosfera.

Para hacer un seguimiento más preciso de las interacciones entre las raíces y el suelo, se realizó un análisis de correlación (Figura 12). Se observaron algunas correlaciones interesantes entre los caracteres de las plantas y los parámetros de la rizosfera (Figura 12). Curiosamente, estas correlaciones variaron dependiendo del momento de muestreo y del sistema de cultivo. En primer lugar, la respiración de las

rizosferas utilizando galactosa como sustrato se correlacionó positivamente en T1 y en ambos sistemas de cultivo con muchos parámetros de las raíces, principalmente relacionados con la longitud y el peso de las mismas. Esta situación cambió en T2 donde las correlaciones fueron diferentes para cada sistema de cultivo. En el campo orgánico, la respiración inducida con galactosa se correlacionó negativamente con una mayor biomasa de las plantas, mientras que en el convencional, los parámetros de respiración prácticamente no se correlacionaron con los caracteres de las plantas.

En T1, PhAl se correlacionó positivamente solo en el campo orgánico con el diámetro de la raíz (DP y >2,5). La actividad de DeHy se correlacionó positivamente con diferentes caracteres de las plantas dependiendo del sistema. En el orgánico, se correlacionó positivamente con DH y los caracteres de la biomasa, mientras que en el convencional se correlacionó con NH y los parámetros de longitud (LT, VT, <0,5 y 0,5-2,5). En T2, las únicas actividades enzimáticas que se correlacionaron significativamente con los caracteres de las raíces fueron PhAc y PhAl, y solo en el suelo orgánico. La actividad de PhAc se correlacionó negativamente con una menor biomasa, mientras que la actividad de PhAl se correlacionó negativamente con las clases de diámetro más pequeñas de la longitud de la raíz, pero positivamente con DP y DR.

En general, el recuento microbiano no se correlacionó con ningún parámetro de la planta en ningún momento ni sistema de cultivo, únicamente se observó una correlación de organismos microbianos oligotróficos más altos (TO) con raíces menos densas (DR) (Figura 12).

Los parámetros del ciclo del nitrógeno mostraron muy pocas correlaciones con los caracteres de las plantas en T1 (Figura 12). Sin embargo, se observó una correlación negativa entre el potencial de Am y DH en el campo orgánico. Y una correlación positiva entre DR y el potencial de NIT-I y una correlación negativa de DR y el potencial de DN. En T2 se observaron más correlaciones significativas. En este caso, el potencial de Am se correlacionó con raíces más delgadas (DP) y menos densas (DR).

Esto solo ocurrió en el caso del campo orgánico, donde también Am, NIT-I y NIT-II estuvieron de alguna manera correlacionados con valores más bajos de biomasa y producción (AeD, AeF, RD, RF y FF). Esta correlación negativa solo se mantuvo en el sistema convencional para la biomasa (AeD y AeF) y el potencial de NIT-II del suelo. En este sistema de cultivo, interesantemente, el diámetro de la raíz (DP), la longitud de las raíces gruesas (> 2,5) y la biomasa de las raíces (RD y RF) se correlacionaron negativamente con el potencial de DN.

#### 4.3.3.2. Análisis factorial con datos de suelo rizosférico y control

Para resumir todas las posibles correlaciones entre las características del suelo, se realizó un análisis factorial exploratorio en el que se consideró que la carga del factor era significativa con niveles superiores a 0,4. El análisis incluyó muestras de suelo control para ambos sistemas de cultivo y tiempos de muestreo, lo que excluyó todas las características de las raíces y la biomasa del análisis. En T1, quince características fueron factorizables a partir de la Medida General de Adecuación del Muestreo (MSA, por sus siglas en inglés) de al menos 0,6 (Kaiser, 1974) (Tabla 14) en tres factores. En T2, dieciséis características fueron factorizables, una más (DeHy) que en T1.

En T1, las principales cargas para el primer factor (que explica el 30,21% de la variación, F1.1) fueron todos los sustratos de respiración inducida (AcCi, AcMa, Gal y Glu) con cargas positivas, y la actividad  $\beta$ Glu y NIT-I con cargas negativas (Tabla 14). Las principales cargas para el segundo factor (14,38% de la variación, F2.1) fueron todas las cuentas microbianas con cargas positivas (Tabla 14). Y para el tercer factor (12,26% de la varianza explicada, F3.1) se obtuvieron las principales cargas con PhAc,  $\beta$ Glu, Ur y el potencial Am con cargas positivas, y NIT-II con carga negativa. Al observar la proyección (Figura 13) de los puntajes de los suelos rizosféricos de cada accesión y control en cada factor (puntajes obtenidos de cada muestra y en cada factor y tiempo en *scorings.csv* en el repositorio), el primer (F1.1) y el segundo (F2.1) factor agruparon

cada sistema de cultivo, siendo el convencional caracterizado por mayores tasas de respiración y menor actividad  $\beta$ Glu y potencial NIT-I (Figura 13).

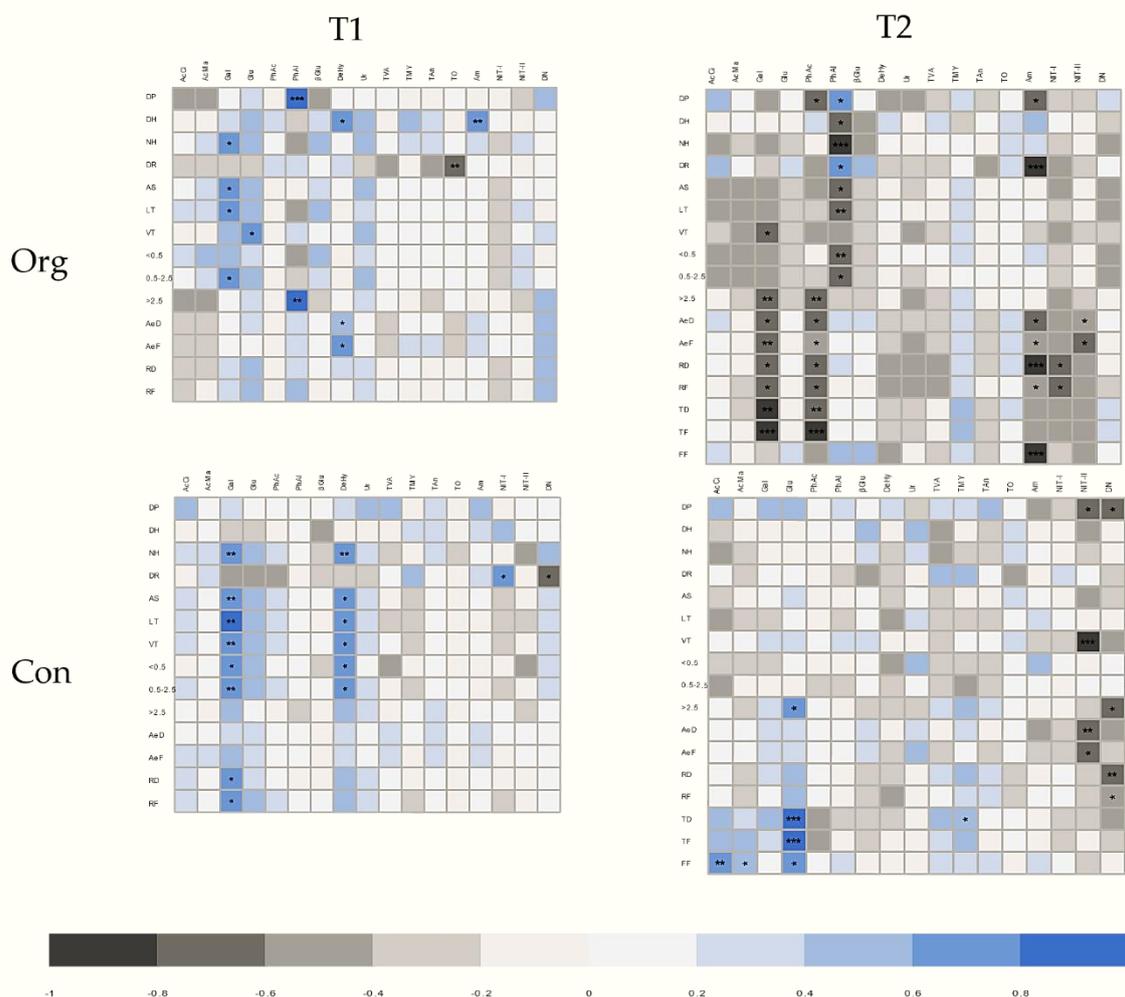


Figura 12. Mapa de calor que muestra las correlaciones entre variables de la planta y rizosféricas: ácido cítrico (AcCi), ácido málico (AcMa), galactosa (Gal), glucosa (Glu), fosfatasa ácida (PhAc), fosfatasa alcalina (PhAl),  $\beta$ -glucosidasa ( $\beta$ Glu), deshidrogenasa (DeHy), ureasa (Ur), recuento total de bacterias aerobias mesófilas viables (TVA), recuento total de mohos y levaduras (TMY), recuento total de bacterias anaerobias estrictas (TAn), recuento total de bacterias oligotróficas (TO), potencial de amonificación (Am), potencial de nitrificación I (NIT-I), potencial de nitrificación II (NIT-II), potencial de desnitrificación (DN, escala 0-4), en dos sistemas de cultivo (orgánico; org y convencional; con) en dos tiempos de muestreo (T1: verano, T2: otoño). Coeficiente de correlación múltiple de Pearson (rango de -1 a 1, escala de gris oscuro a azul, respectivamente), evaluado con nivel de significancia por prueba t al 5%, 1%, y 0,1%. Los niveles de significancia están indicados por \*, \*\*, y \*\*\*, respectivamente.

Para las muestras de la rizosfera de Serrano, cuyas puntuaciones no pudieron diferenciar entre sistemas de cultivo, estos caracteres de F1.1 y F2.1 tuvieron una fuerte

influencia del genotipo, por lo que se agruparon muy cercanos sin importar el sistema de cultivo.

En T2, el primer factor (35,89% de la variación, F1.2. Tabla 14) se caracterizó por cargas positivas de Gal, Glu, PhAc,  $\beta$ Glu, Ur, TO, Am, NIT-I y NIT-II, y DeHy con carga negativa (Tabla 14). El segundo factor (F2.2) tuvo solo dos cargas, pero muy altas, AcCi y AcMa. Y por último, el tercer factor (F3.2) tuvo tres variables con cargas positivas, Gal, TVA y TAn y una con carga negativa y significativa, DN. En este momento, nuevamente la puntuación en F1.2 pudo diferenciar entre sistemas de cultivo (Figura 13). Y con F2.2, el peso de la respiración inducida por ácidos carboxílicos diferenció interesantemente todas las muestras suelo control y rizosférico de *Serrano*. El factor F3.2 fue capaz de diferenciar algunas accesiones y el control, en el sistema de cultivo orgánico *BOL-58* y *Serrano* tuvieron cargas positivas y en el sistema de cultivo convencional *BOL-58* y el control con cargas negativas (puntajes obtenidos de cada muestra y en cada factor y tiempo en *scorings.csv* en el repositorio) (Figura 13).

Tabla 14. Cargas de los factores para los parámetros analizados en muestras de suelo rizosférico y control: ácido cítrico (AcCi), ácido málico (AcMa), galactosa (Gal), glucosa (Glu), fosfatasa ácida (PhAc),  $\beta$ -glucosidasa ( $\beta$ Glu), deshidrogenasa (DeHy), y ureasa (Ur), recuento total de bacterias aerobias mesófilas viables (TVA), recuento total de mohos y levaduras (TMY), recuento total de bacterias anaerobias estrictas (TAn), recuento total de bacterias oligotróficas (TO), potencial de amonificación (Am), potencial de nitrificación I (NIT-I), potencial de nitrificación II (NIT-II), potencial de desnitrificación (DN, escala 0-4), en dos sistemas de cultivo (orgánico; org y convencional; con) en dos tiempos de muestreo (T1: verano, T2: otoño).

	T1			T2		
	F1.1	F2.1	F3.1	F1.2	F2.2	F3.2
AcCi	<b>0,83</b>	-0,36	0,19	-0,04	<b>0,91</b>	0,16
AcMa	<b>0,57</b>	-0,38	-0,03	0,01	<b>0,92</b>	-0,03
Gal	<b>0,77</b>	0,14	-0,06	<b>0,45</b>	0,26	<b>0,55</b>
Glu	<b>0,71</b>	0,12	-0,17	<b>0,50</b>	0,22	0,09
PhAc	-0,35	0,19	<b>0,66</b>	<b>0,60</b>	-0,06	0,07
$\beta$ Glu	<b>-0,50</b>	0,29	<b>0,40</b>	<b>0,73</b>	0,33	0,12
DeHy	-	-	-	<b>-0,40</b>	0,06	0,19
Ur	-0,05	-0,04	<b>0,72</b>	<b>0,97</b>	0,10	0,06
TVA	-0,15	<b>0,73</b>	0,37	0,27	-0,03	<b>0,91</b>
TMY	0,12	<b>0,43</b>	0,32	0,24	0,18	0,14
TAn	-0,25	<b>0,47</b>	0,32	-0,17	0,19	<b>0,45</b>
TO	0,05	<b>0,81</b>	-0,16	<b>0,81</b>	-0,08	0,28
Am	0,06	0,01	<b>0,51</b>	<b>0,68</b>	-0,26	0,24
NIT-I	<b>-0,57</b>	0,29	0,37	<b>0,44</b>	0,28	0,03
NIT-II	0,13	-0,14	<b>-0,42</b>	<b>0,87</b>	-0,19	0,26
DN	0,05	-0,16	-0,01	<b>-0,39</b>	0,20	<b>-0,48</b>
% de Var.	30,21	14,38	12,26	35,89	15,46	10,67
Valores Eigen	4,53	2,16	1,84	5,74	2,47	1,71

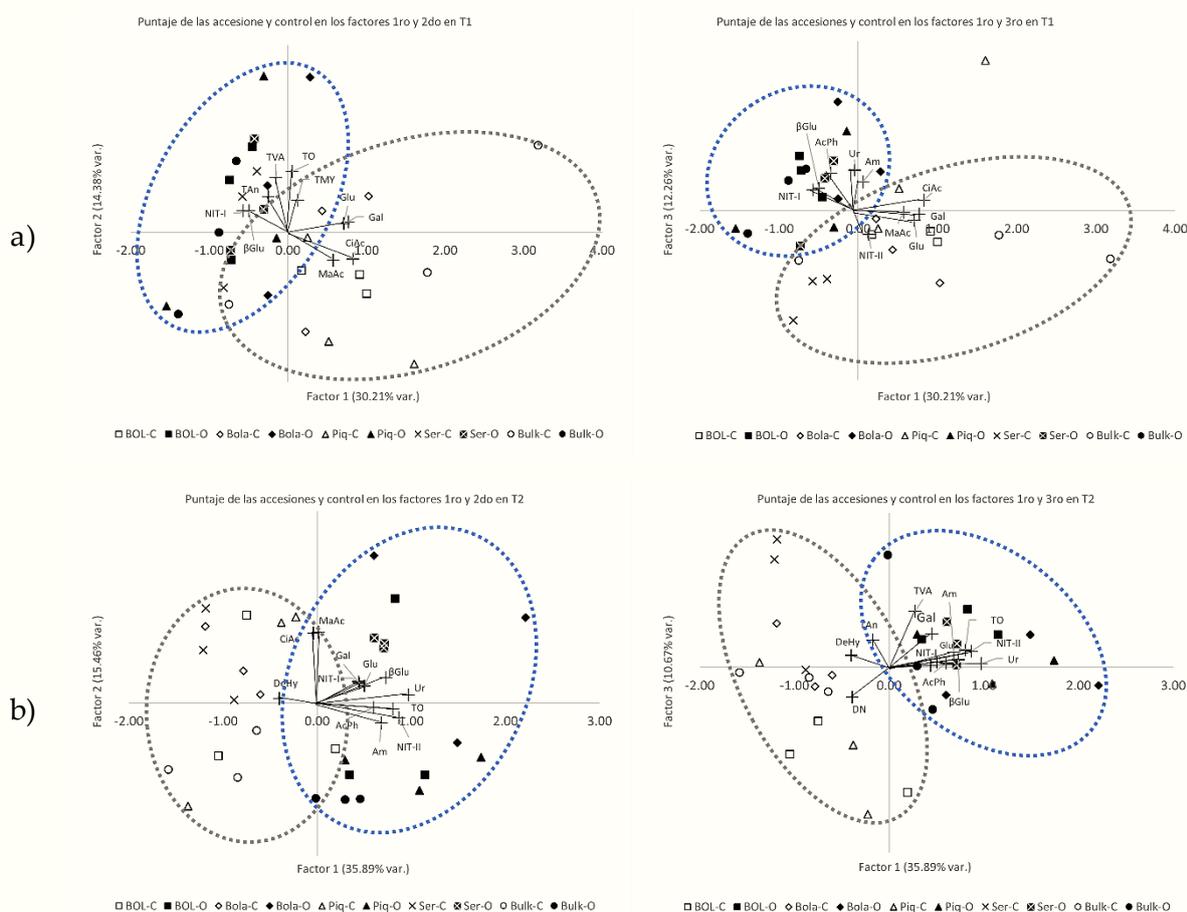


Figura 13. Proyección de las accesiones y el control en el nuevo espacio factorial. Puntajes de las accesiones, control y cargas de las variables. a) en fase vegetativa (T1), a la izquierda está la proyección en el primer y segundo factores; a la derecha está la proyección en el primer y tercer factores. b) en la fase de fructificación (T2), a la izquierda está la proyección en el primer y segundo factores; a la derecha está la proyección en el primer y tercer factores. La línea punteada azul agrupa a la mayoría de las muestras del sistema de cultivo orgánico y la línea punteada gris agrupa a la mayoría de las muestras del sistema de cultivo convencional.

## 4.4. Discusión

### 4.4.1. El sistema de cultivo condiciona el estado del suelo.

Los resultados mostraron la complejidad y la dinámica de los suelos evaluados. En este experimento se seleccionaron dos campos similares que se eligieron para minimizar los efectos debidos a las condiciones climatológicas y las propiedades fisicoquímicas del suelo. Ambos suelos difieren principalmente en el manejo del

cultivo, con la aplicación de fertilizantes químicos y pesticidas en el caso de la agricultura convencional y solo enmiendas de materia orgánica y productos autorizados de agricultura orgánica en el caso del cultivo orgánico. Los resultados mostraron claras diferencias en los caracteres del suelo estudiados, que fueron capaces de diferenciar entre ambos suelos desde el principio del experimento. Esto mostró claramente la impronta de los registros históricos del suelo, que se mantuvo de alguna manera durante la temporada (de Brogniez *et al.*, 2015). Olayemi *et al.* (2022), en un estudio de 6 años en suelos limo-arcillosos de clima semiárido de Colorado (EE. UU.), concluyeron que las comunidades biológicas del suelo están generalmente enriquecidas y son más diversas bajo la retención continua de residuos orgánicos, lo que causa en el largo plazo una mayor biodiversidad del suelo y una serie de funciones críticas del suelo mediadas por los organismos del suelo. Los resultados obtenidos aquí para los diferentes caracteres del suelo estudiados coinciden con esa idea.

En primer lugar, la tasa de respiración inducida medida mediante el método colorimétrico puede ser un indicador del nivel de biomasa microbiana y diversidad de ciertos suelos (Rowell, 1995, Campbell *et al.*, 2003, Cookson *et al.*, 2008, Sanden *et al.*, 2019). Además, la caracterización de la diversidad catabólica microbiana del suelo a través de la respiración inducida por sustrato podría ser una forma de monitorear la resistencia y la resiliencia biológica del suelo (Swallow *et al.*, 2015). Sin embargo, la respiración microbiana y la utilización de carbono no son estáticas, sino que varían a lo largo del año, probablemente debido a las variaciones estacionales en las características de los ecosistemas estudiados (Babur *et al.*, 2022). Por lo tanto, las diferencias en los resultados de la respiración inducida entre los dos tiempos de muestreo en este experimento no son sorprendentes en absoluto, ya que los dos muestreos se realizaron al comienzo (T1: verano) y al final (T2: otoño) del período más cálido del año en Valencia (temperatura promedio, mínima y máxima = 22°, 11°, y 36° C, I.V.I.A.). Estudios previos realizados en zonas áridas mostraron que la respiración microbiana del suelo puede adaptarse a la temperatura ambiental a través del ajuste

fisiológico de individuos o poblaciones microbianas enteras (Dacal *et al.*, 2019). Además, esta respuesta de las comunidades microbianas a diferentes temperaturas podría utilizarse para predecir los cambios inducidos por el clima en los flujos de carbono (Bradford *et al.*, 2019). Se ha encontrado que el aumento de la temperatura reduce la biomasa microbiana total, pero al mismo tiempo, la respuesta a la temperatura depende de la calidad del suelo (Ali *et al.*, 2018). Las diferencias en las sensibilidades a la temperatura de los taxa y la composición taxonómica de las comunidades determinan el crecimiento bacteriano ensamblado por la comunidad (Wang *et al.*, 2021).

En el presente experimento, la tasa de respiración inducida en el suelo orgánico fue menor al comienzo del experimento, mientras que en T2 las tasas de respiración de los suelos de los dos sistemas fueron similares. El hecho de que las tasas de respiración fueran más estables en el campo orgánico que en el convencional puede indicar que las poblaciones microbianas están amortiguadas durante la temporada cálida, probablemente debido a su perfil microbiano específico, que puede diferir de la comunidad microbiana en la parcela convencional. A pesar de la tendencia general observada a lo largo del tiempo según el sistema de cultivo, es importante tener en cuenta que no todos los sustratos se comportaron de la misma manera. Creamer *et al.* (2016) demostraron, después de probar ocho sustratos en ochenta y un suelos, que el comportamiento del sustrato dependía de las combinaciones de uso de la tierra, pH y materia orgánica del suelo. Específicamente, informaron de una mayor utilización de sustratos basados en ácido carboxílico en sitios arables que concuerdan con nuestros resultados, con tasas de respiración más altas con AcCi y AcMa, especialmente en convencional. Además, los suelos analizados tenían un pH de 8,2, que se ha informado como negativo para el uso de Gal, pero positivo para el uso de ácidos orgánicos (Creamer *et al.*, 2016).

En segundo lugar, otros indicadores importantes de la calidad del suelo son las enzimas del suelo (Attademo *et al.*, 2021). Las diferentes actividades enzimáticas del

suelo son el resultado de la proliferación de microorganismos y la acumulación de actividad enzimática. Las principales fuentes de enzimas acumuladas son las células de los microorganismos, y una pequeña parte puede provenir de residuos orgánicos de plantas y animales. La deshidrogenasa y la  $\beta$ -glucosidasa se utilizan generalmente como indicadores de la actividad microbiana, ya que la deshidrogenasa está involucrada en procesos intracelulares de oxidación-reducción y la  $\beta$ -glucosidasa, como enzima extracelular, es fundamental en la hidrólisis y degradación de los carbohidratos del suelo, liberando glucosa, que representa una importante contribución de energía para los microorganismos del suelo. Las fosfatasa alcalina y ácida son dos enzimas no específicas que catalizan la hidrólisis de los glicerofosfatos y difieren en su pH óptimo para la acción, 11 y 6 respectivamente, y están involucradas en la liberación de P de las formas orgánicas. Finalmente, la actividad ureasa en el suelo puede estar asociada con células vivas, muertas o restos celulares, o incluso puede estar inmovilizada en arcillas húmicas y coloides. La ureasa hidroliza la urea en amonio, forma utilizable de N por las plantas, y dióxido de carbono, participando activamente en el ciclo del nitrógeno y luego en la fertilidad del suelo (Dotaniya *et al.*, 2019). Las actividades enzimáticas observadas en los suelos analizados aquí permanecieron estables a lo largo del tiempo, siendo similares a las reportadas por otros autores como Jat *et al.* (2021) en suelos de rizosfera y suelo control de cultivos de cereales con diferentes manejos en India. Mientras que otros autores informaron que los niveles más probables para el oeste de España para las fosfatasas ácidas son de 10-40  $\mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$  (Sun *et al.*, 2020).

Además de las propiedades del suelo, se ha descrito que el manejo del suelo es un impulsor de la actividad enzimática del suelo (Bandik y Dick, 1999). Los resultados en ese artículo mostraron diferencias significativas entre los dos sistemas de cultivo para todas las enzimas probadas excepto la deshidrogenasa. Curiosamente, DeHy es la única, de las evaluadas en ese experimento, con actividad intracelular exclusiva. Eso puede indicar una masa microbiana similar entre los campos convencionales y

orgánicos, pero un perfil diferente de microorganismos. Además, al ser una enzima fundamental para el ciclo del carbono en el suelo, la actividad de la  $\beta$ -glucosidasa fue, en promedio, aproximadamente un 30% mayor en el suelo orgánico de nuestra investigación, evidenciando la importancia de la presencia de carbono orgánico en el suelo, mayor debido a la fertilización con estiércol en el orgánico (Mangalassery *et al.*, 2015). De hecho, un mayor contenido de materia orgánica se ha correlacionado continuamente con una mayor actividad enzimática. PhAl, PhAc y Ur también fueron significativamente más altas en el suelo orgánico que en el convencional, y estas enzimas no solo están influenciadas por la materia orgánica del suelo, sino también por el estado de fertilización. Se ha correlacionado una mayor fertilización con una menor actividad de esas enzimas, aunque en el caso de la fosfatasa ácida se ha descrito que niveles crecientes de N producen mayor actividad (Margalef *et al.*, 2021).

En tercer lugar, los recuentos microbianos ofrecen la oportunidad de cuantificar la biomasa microbiana y su perfil. En concordancia con lo que sucedió con la actividad enzimática, los recuentos microbianos fueron más abundantes en el sistema orgánico que en el convencional, dependiendo del perfil de la comunidad y del momento de muestreo. Por ejemplo, los recuentos de aerobios viables totales (TVA) fueron más altos en orgánico que en convencional en ambos momentos de muestreo, mientras que los recuentos microbianos anaerobios fueron más altos en orgánico solo en T1 y para los oligotróficos solo en T2. Niveles más altos de diversidad microbiana suelen reportarse en la agricultura orgánica debido a la mayor cantidad de materia orgánica (Habteselassie *et al.*, 2022). Además, los cambios en el tiempo en las comunidades microbianas son comunes (Zhao *et al.*, 2014). Por el contrario, los recuentos de mohos y levaduras fueron similares independientemente del sistema de cultivo o del momento de muestreo. Otros autores han señalado que estas comunidades son relativamente estables con un perfil típico dependiendo del tipo de suelo y clima, y con pocos géneros dominando sobre los demás (Liu *et al.*, 2018, Tkacz *et al.*, 2020).

Finalmente, al igual que en el caso de los recuentos microbianos, los resultados presentados aquí también indican diferencias en la dinámica del ciclo del nitrógeno entre los sistemas de cultivo. Los microorganismos han estado controlando el ciclo del nitrógeno de la Tierra desde que apareció la vida (Canfield *et al.*, 2010). El ciclo del nitrógeno se refiere al proceso dinámico que circula este elemento cíclicamente a través del suelo y la atmósfera, permitiendo la transformación del nitrógeno en formas accesibles al metabolismo de los microorganismos, las plantas y los animales. La fijación de nitrógeno es el proceso de reducción del nitrógeno molecular a amoníaco. El grupo de fijadores de nitrógeno atmosférico está compuesto por numerosos organismos, incluyendo i) fijadores aeróbicos de nitrógeno de los géneros *Azotobacter*, *Beijerinckia*, *Derexia* y *Azotomonas*, ii) bacterias estrictamente anaerobias, como las del género *Clostridium* y iv) bacterias fijadoras simbióticas como *Rhizobium* para la familia vegetal *Fabaceae*, o *Frankia* con angiospermas no leguminosas.

La mineralización es el proceso de transformación del nitrógeno orgánico en amoníaco. El grupo funcional de mineralizadores es amplio e incluye hongos y bacterias. En nuestro experimento, el recuento total de mohos y levaduras y el recuento total de bacterias anaeróbicas se correlacionaron con la tasa potencial de mineralización. Algunos géneros fúngicos como *Mucor* y *Rhizopus* o *Aspergillus* y *Penicillium* han sido descritos como mineralizadores de N, mientras que las bacterias mineralizadoras podrían estar representadas por géneros como *Pseudomonas*, *Clostridium*, *Serratia*, *Bacillus*, *Escherichia* y *Micrococcus* (Xiao *et al.*, 2022). En el proceso de nitrificación, los microorganismos convierten el amoníaco en nitrato para obtener energía. En nuestro experimento, el recuento total de oligotróficos y el recuento total de anaeróbicos se correlacionan con el proceso de nitrificación. Las bacterias nitrificantes típicas pertenecen a la familia *Nitrobacteriaceae*: *Nitrosomonas*, *Nitrosobolus*, *Nitrosospira*, *Nitrosococcus* y *Nitrosovibrio*, oxidando el nitrógeno amoniacal a nitrito y *Nitrobacter*, *Nitrosospira* y *Nitrococcus*, que oxidan el nitrito a nitrato. Tanto la mineralización como la nitrificación fueron mayores en el sistema orgánico que en el convencional, lo que

indica una mayor capacidad para recircular nitrógeno en el sistema. Se observaron tasas más altas de mineralización y nitrificación en sistemas de cultivo orgánico que han sido descritos por algunos autores (Lin *et al.*, 2016, Henneron *et al.*, 2020, Yue *et al.*, 2022) debido al uso de la Materia Orgánica del Suelo (SOM) por parte de las comunidades microbianas. Se sabe que el proceso de nitrificación se ve potenciado cuando el suelo está caliente (20-30 °C), lo que explica la gran caída en el potencial de nitrificación de los suelos en T2 (temperaturas más suaves), que fue más intensa en el convencional que en el orgánico.

La desnitrificación ocurre cuando el nitrógeno se pierde a través de la conversión del nitrato en formas gaseosas, como el óxido nítrico, el óxido nitroso y el gas dinitrógeno. En este experimento, el suelo convencional sufrió una mayor desnitrificación, pero no se identificó el tipo de gas producido. El óxido nitroso es un potente gas de efecto invernadero con un potencial de calentamiento global (Masson-Delmotte, *et al.*, 2021, IPCC, por sus siglas en inglés), mientras que el N<sub>2</sub> es inerte.

Lazcano *et al.* (2021) señalaron la necesidad de aumentar las reservas de carbono del suelo para contribuir a la retención de nitrógeno en su forma orgánico-microbiano o estabilizado en el suelo, al mismo tiempo que aumenta la abundancia de microorganismos desnitrificantes y así reducir las emisiones de N<sub>2</sub>O al favorecer la finalización de la desnitrificación produciendo gas dinitrógeno.

#### *4.4.2. El comportamiento de la rizosfera depende de los genotipos a medida que el cultivo evoluciona.*

A pesar de la gran importancia de las propiedades del suelo y del sistema agrícola en los parámetros del suelo estudiados, en este experimento también fue posible observar la influencia de las plantas en las propiedades de la rizosfera, especialmente en T2. Esto mostró que durante el crecimiento de la planta interactúa con el entorno circundante de una manera muy específica. Los desechos de la rizosfera, los exudados de las raíces y las células fronterizas de las raíces dan forma a las

comunidades microbianas, el pH y otros factores en la rizosfera, permitiendo que las plantas absorban una variedad más amplia de nutrientes para el crecimiento e inhibiendo posibles patógenos (Sánchez-Cañizares *et al.*, 2017, Vives-Peris *et al.*, 2020). En este experimento no hubo muchas diferencias en las tasas de respiración entre las rizosferas de las accesiones y el suelo control, excepto para *Bola* y *Serrano*. Aunque otros autores también han identificado diferencias en las actividades catabólicas rizosféricas a nivel de especies vegetales (Brolsma *et al.*, 2017), según nuestro conocimiento, esta es la primera vez que se observan tales diferencias en las tasas de respiración a nivel de accesión.

En relación con la actividad enzimática, por lo general, se observa una mayor actividad en la zona de la rizosfera en comparación con el suelo control debido al mayor depósito de carbono orgánico en esta área, lo que crea condiciones favorables para la actividad microbiana (Hirte *et al.*, 2018). La presencia de una vegetación profusa, una alta colonización de raíces y la ausencia de labranza han sido correlacionados con una mayor actividad enzimática del suelo (Choudhary *et al.*, 2018, Dotaniya *et al.*, 2019, Bergstrom *et al.*, 2000). Por lo general, el suelo de la rizosfera se caracteriza por una mayor cantidad de carbono muy lábil y menores contenidos de nitrógeno mineral y otros nutrientes, con un número de microorganismos 19-32 veces mayor en comparación con el suelo control (Kuzyakov, 2002). En contra de lo esperado, en este experimento no se observaron grandes diferencias entre las muestras del suelo de la rizosfera y del suelo control, excepto para la variedad *Serrano*. En experimentos previos, el efecto de las accesiones en la actividad enzimática del suelo fue más intensa (Fita *et al.*, 2014, Ribes-Moya *et al.*, 2019).

Se ha descrito que los exudados y otros metabolitos secundarios pueden alterar la microbiota de la rizosfera (Hu *et al.*, 2018). En nuestro caso, solo se pudo observar este efecto con las accesiones *Serrano* y *Piquillo*, modificando el recuento total de microorganismos en T2. El efecto de ciertas rizobacterias promotoras del crecimiento de las plantas (PGPR) y de los exudados de algunas accesiones puede ser responsable

del aumento en el número total de microorganismos observados, como lo han descrito otros autores (Singh *et al.*, 2004, Wang *et al.*, 2020). Estos resultados han demostrado que las comunidades de la rizosfera moduladas por las diferentes moléculas exudadas hacen que ciertos grupos de microorganismos tengan mayor afinidad por algunas variedades que por otras (Berendsen *et al.*, 2012). Además, en el caso de la accesión *Piquillo*, la mineralización de nitrógeno presentó valores más altos en interacción con el sistema de cultivo convencional. Esta capacidad de movilización afecta al ciclo del nitrógeno y parece estar correlacionada con un aumento en la masa aérea de la planta y en el peso de la fruta. Existen pruebas evidentes de que las plantas no son conductos pasivos que absorben cualquier forma de nitrógeno que difunde hacia sus raíces, sino que pueden mejorar su nutrición mediante (a) el establecimiento de simbiosis con microorganismos del suelo; (b) estimulando la actividad de los microorganismos en la proximidad de las raíces para aumentar la disponibilidad; y (c) aumentando la conservación de nitrógeno en el suelo limitando los procesos microbianos que conducen a su pérdida, como la nitrificación y la desnitrificación, directamente a través de la liberación de inhibidores desde sus raíces (Moreau *et al.*, 2019, Schmidt *et al.*, 2019).

#### 4.4.3. Las interacciones planta-suelo son complejas y multifactoriales.

*Piquillo*, *Serrano* y *Bola* fueron seleccionados para formar parte de este experimento debido a su buen rendimiento para la adquisición de fósforo en estudios previos, ya sea en eficiencia de captación o en eficiencia de utilización. En esos experimentos, la longitud de la raíz aumentó bajo deficiencia de P y se encontró que las raíces finas se correlacionaron con los parámetros de eficiencia de P (Pereira *et al.*, 2020). Aquí, se ha descrito por primera vez la capacidad de estos genotipos para alterar la comunidad y la función microbiana de la rizosfera, aunque aún queda por estudiar el impacto de tales alteraciones en el estado nutricional real de la planta.

Contrariamente a lo esperado, los caracteres morfológicos de la raíz mostraron pocas correlaciones con la rizosfera, siendo significativos sólo para la respiración inducida por Gal y Glu, PhAc y PhAl y algunos pasos del ciclo del nitrógeno. Además, las correlaciones no fueron generales a través de los diferentes sistemas de cultivo y tiempos de muestreo. Por lo tanto, podemos sugerir que la exudación de raíces fue más importante que la morfología de las raíces para crear diferencias entre las rizosferas de las accesiones. Desafortunadamente, el estudio de los exudados de las raíces es difícil y aún necesita ser mejorado (Oburger y Jones, 2018).

La exudación radicular, junto con la morfología radicular y las simbiosis micorrícicas, se ha descrito como una forma de dar forma a las estrategias de adquisición de recursos subterráneos de manera dependiente de la especie (Wen *et al.*, 2021). Parece que cada especie vegetal tiene su propia estrategia que favorece una de las posibles soluciones sobre las demás, por ejemplo, la respuesta del maíz a la deficiencia de fósforo parece depender más de los cambios morfológicos de la raíz que del aumento de la exudación radicular (Wen *et al.*, 2017). La independencia entre la morfología de la raíz y el nivel de exudación radicular también se ha descrito en estudios como el de Iannucci *et al.* (2021), donde se estudiaron ocho genotipos de trigo duro en su morfología de raíz, exudados y comunidad del suelo y solo se encontró correlación entre los dos últimos. Para futuros análisis, sería conveniente estudiar si los exudados radiculares están correlacionados con una determinada morfología de la raíz, como sugieren algunas de nuestras correlaciones, o si son totalmente independientes.

#### **4.5. Conclusiones**

Una variedad de factores agronómicos y geográficos influyen en las comunidades microbianas del suelo y comprender el funcionamiento del ciclo del nitrógeno es un paso importante. El presente estudio aporta nuevas ideas sobre cómo la interacción entre el genotipo del pimiento y la agricultura orgánica permite identificar la combinación más adecuada para la salud del suelo.

En general, el uso intensivo del suelo altera el funcionamiento de la comunidad microbiana relacionada con el ciclo del nitrógeno, lo que provoca la pérdida de la biodiversidad del suelo y aumenta la vulnerabilidad al cambio climático.

A pesar de la importancia de las propiedades microbianas (por ejemplo, actividad, biomasa) para la salud del suelo, nuestro conocimiento de estas contribuciones aún es limitado, y consideramos importante incluir la actividad microbiana del suelo, especialmente a grandes escalas espaciales. El carbono orgánico del suelo desempeñó un papel importante en la regulación de la actividad enzimática tanto en la rizosfera como en el suelo en general, lo que significa que los suelos orgánicos muestran valores más altos de actividades enzimáticas.

#### **4.6. Referencias bibliográficas**

Aira, M., Gomez-Brandon, M., Lazcano, C., Bååth, E., Dominguez, J. Plant genotype strongly modifies the structure and growth of maize rhizosphere microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry*, 2010, 42, 2276-2281. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.08.029>

Alef, K., Nannipieri, P. (1995). *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry*. Academic Press.

Ali, R. S., Poll, C., Kandeler, E. (2018). Dynamics of soil respiration and microbial communities: Interactive controls of temperature and substrate quality. *Soil Biology and Biochemistry*, 127, 60-70. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.09.010>

Aon, M. A., Cabello, M. N., Sarena, D. E., Colaneri, A. C., Franco, M. G., Burgos, J. L., Cortassa, S. I. (2001). Spatio-temporal patterns of soil microbial and enzymatic activities in an agricultural soil. *Applied Soil Ecology*, 18(3), 239-254. [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(01\)00153-6](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(01)00153-6)

Attademo, A. M., Sánchez-Hernández, J. C., Lajmanovich, R. C., Repetti, M. R., Peltzer, P. M. (2021). Enzyme Activities as Indicators of Soil Quality: Response to Intensive Soybean and Rice Crops. *Water, Air, & Soil Pollution*, 232(7). <https://doi.org/10.1007/s11270-021-05211-2>

Babur, E., Dindaroğlu, T., Riaz, M., Uslu, O. S. (2022). Seasonal variations in litter layers' characteristics control microbial respiration and microbial carbon utilization under mature

pine, cedar, and beech forest stands in the Eastern Mediterranean Karstic Ecosystems. *Microbial ecology*, 84(1), 153-167. <https://doi.org/10.1007/s00248-021-01842-4>

Bandick, A. K., Dick, R. P. (1999). Field management effects on soil enzyme activities. *Soil Biology and Biochemistry*, 31(11), 1471–1479. [https://doi.org/10.1016/s0038-0717\(99\)00051-6](https://doi.org/10.1016/s0038-0717(99)00051-6)

Berendsen, R. L., Pieterse, C. M. J., Bakker, P. A. H. M. (2012). The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends in Plant Science*, 17(8). <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.04.001>

Bergstrom, D. W., Monreal, C. M., Tomlin, A. D., Miller, J. J. (2000). Interpretation of soil enzyme activities in a comparison of tillage practices along a topographic and textural gradient. *Canadian Journal of Soil Science*, 80(1), 71-79. <https://doi.org/10.4141/S99-034>

Bradford, M. A., McCulley, R. L., Crowther, T., Oldfield, E. E., Wood, S. A., Fierer, N. (2019). Cross-biome patterns in soil microbial respiration predictable from evolutionary theory on thermal adaptation. *Nature Ecology & Evolution*, 3(2), 223-231. <https://doi.org/10.1038/s41559-018-0771-4>

Brolsma, K. M., Vonk, J. A., Mommer, L., Van Ruijven, J., Hoffland, E., De Goede, R. G. (2017). Microbial catabolic diversity in and beyond the rhizosphere of plant species and plant genotypes. *Pedobiologia*, 61, 43-49. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2017.01.006>

Campbell, C. D., Chapman, S. J., Cameron, C. M., Davidson, M. S., Potts, J. M. (2003). A rapid microtiter plate method to measure carbon dioxide evolved from carbon substrate amendments so as to determine the physiological profiles of soil microbial communities by using whole soil. *Appl Environ Microbiol*, 69(6), 3593-3599. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.6.3593-3599.2003>

Canfield, D. E., Glazer, A. N., Falkowski, P. G. (2010). The Evolution and Future of Earth's Nitrogen Cycle. *Science*, 330(6001), 192–196. <https://doi.org/10.1126/science.1186120>

Capitán, L. F.; Avidad, R., Fernández, M. D., Ariza, A. Sensor de un solo uso para la detección y determinación de nitrito en aguas. Patente: 2185462. Otorgada: 19 June 2004.

Choudhary, M., Jat, H. S., Datta, A., Yadav, A. K., Sapkota, T. B., Mondal, S., Meena, R. P., Sharma, P. C., Jat, M. L. (2018). Sustainable intensification influences soil quality, biota, and productivity in cereal-based agroecosystems. *Applied Soil Ecology*, 126, 189-198. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2018.02.027>

Cookson, W. R., Murphy, D. V., Roper, M. M. (2008). Characterizing the relationships between soil organic matter components and microbial function and composition along a tillage disturbance gradient. *Soil Biology and Biochemistry*, 40, 763–777. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.10.011>

Creamer, R. E., Stone, D., Berry, P., Kuiper, I. (2016). Measuring respiration profiles of soil microbial communities across Europe using MicroResp™ method. *Applied soil ecology*, 97, 36-43. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2015.08.004>

Dacal, M., Bradford, M. A., Plaza, C., Maestre, F. T., García-Palacios, P. (2019). Soil microbial respiration adapts to ambient temperature in global drylands. *Nature ecology and evolution*, 3(2), 232-238. <https://doi.org/10.1038/s41559-018-0770-5>

de Brogniez, D., Ballabio, C., Stevens, A., Jones, R. J. A., Montanarella, L., van Wesemael, B. (2015). A map of the topsoil organic carbon content of Europe generated by a generalized additive model. *European Journal of Soil Science*, 66(1), 121–134. <https://doi.org/10.1111/ejss.12193>

Degens, B. P., Harris, J.A. (1997). Development of a physiological approach to measuring the catabolic diversity of soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry*, 29(9-10), 1309-1320. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(97\)00076-X](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(97)00076-X)

Degens, B. P., Schipper, L. A., Sparling, G. P., Vojvodic-Vukovic, M. (2000). Decreases in organic C reserves in soils can reduce the catabolic diversity of soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry*, 32(2), 189-196. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(99\)00141-8](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(99)00141-8)

Dotaniya, M. L., Aparna, K., Dotaniya, C. K., Singh, M., Regar, K. L. (2019). Role of soil enzymes in sustainable crop production. In *Enzymes in food biotechnology*. Academic Press.

Edwards, C. A. (2004). *Earthworm Ecology*, 2nd ed. CRC Press, London.

FAOSTAT. Statistic division, Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponible en línea: <http://www.fao.org/faostat/> (ingresado 26 Octubre 2022).

Fierer, N., Wood, S. A., de Mesquita, C. P. B. How microbes can, and cannot, be used to assess soil health. *Soil Biology and Bio-chemistry*, 2021, 153, 108111. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2020.108111>

Fita, A., García-Martínez, M. D., Raigón, M. D., Lerma, M. D., Moreno, E., Rodríguez-Burruezo, A. Peppers: soil dynamics, root architecture and fruit quality. In *International*

congress. Strategies for organic and low input agricultures and their food systems. Solibam congress. Nantes. 7-9 July 2014.

García, C., Hernandez, T., Costa, F., Ceccanti, B., Masciandaro, G. The dehydrogenase activity of soil as an ecological marker in process of perturbed system regeneration. In Proceedings of the XI International Symposium of Environmental Biochemistry Gallardo-Lancho, J. (Ed.), Salamanca, Spain, 1993, 89-100.

Griffiths, B. S., Philippot, L. (2013). Insights into the resistance and resilience of the soil microbial community. *FEMS Micro-biol*, 37, 112–129. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2012.00343.x>

Habteselassie, M., Woodruff, L., Norton, J., Ouyang, Y., & Sintim, H. (2022). Changes in microbial communities in soil treated with organic or conventional N sources. *Journal of Environmental Quality*, 51(6), 1144–1154. Portico. <https://doi.org/10.1002/jeq2.20406>

Henneron, L., Kardol, P., Wardle, D. A., Cros, C., Fontaine, S. (2020). Rhizosphere control of soil nitrogen cycling: a key component of plant economic strategies. *New Phytol*, 228, 1269-1282. <https://doi.org/10.1111/nph.16760>

Hirte, J., Leifeld, J., Abiven, S., Oberholzer, H.R., Mayer, J. (2018). Below ground carbon inputs to soil via root biomass and rhizo-deposition of field-grown maize and wheat at harvest are independent of net primary productivity. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 265, 556-566. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2018.07.010>

Hu, L., Robert, C. A. M., Cadot, S., Zhang, X., Ye, M., Li, B., Manzo, D., Chervet, N., Steinger, T., van der Heijden, M.G.A., Schlaeppli, K., Erb, M. (2018). Root exudate metabolites drive plant-soil feedbacks on growth and defense by shaping the rhizosphere microbiota. *Nat Commun*, 9, 2738. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05122-7>

Iannucci, A., Canfora, L., Nigro, F., De Vita, P., Beleggia, R. (2021). Relationships between root morphology, root exudate compounds and rhizosphere microbial community in durum wheat. *Applied Soil Ecology*, 158, 103781. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2020.103781>

James Hutton Ltd. Scotland, UK. V3.2 October 2017.

Jarek, S. (2012). mvnormtest: Normality test for multivariate variables. R package version 0.1-9 <https://CRAN.R-project.org/package=mvnormtest>

Jat, H. S., Datta, A., Choudhary, M., Sharma, P. C., Dixit, B., Jat, M. L. (2021). Soil enzymes activity: Effect of climate smart agriculture on rhizosphere and bulk soil under cereal based systems of north-west India. *European Journal of Soil Biology*, 103, 103292. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2021.103292>

Kaiser, H. F. An index of factorial simplicity. *Psychometrika*, 1974, 39(1), 31–36. <https://doi.org/10.1007/bf02291575>

Kandasamy, S., Loganathan, K., Muthuraj, R., Duraisamy, S., Seetharaman, S., Thiruvengadam, R., Ponnusamy, B., Ramasamy, S. (2009). Understanding the molecular basis of plant growth promotional effect of *Pseudomonas fluorescens* on rice through protein profiling. *Proteome Sci*, 7(1), 47. <https://doi.org/10.1186/1477-5956-7-47>

Kandeler, E., Gerber, H. (1988). Short-term assay of soil urease activity using colorimetric determination of ammonium. *Biol Fert Soils*, 6, 68-72. <https://doi.org/10.1007/BF00257924>

Kandeler, E., Stemmer, M., Klimanek, E. M. (1999). Response of soil microbial biomass, urease and xylanase within particle size fraction to long-term soil management. *Soil Biology and Biochemistry*, 31, 261-273.

Kloepper, J. W., Ryu, C. M., Zhang, S. (2004). Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. *Phyto-pathology*, 94(11), 1259-1266. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2004.94.11.1259>

Kuzyakov, Y. (2002). Factors affecting rhizosphere priming effects. *Z Pflanzenemähr Bodenk*, 165(4), 382-396. [https://doi.org/10.1002/1522-2624\(200208\)165:4%3C382::AID-JPLN382%3E3.0.CO;2-%23](https://doi.org/10.1002/1522-2624(200208)165:4%3C382::AID-JPLN382%3E3.0.CO;2-%23)

Lazcano, C., Zhu-Barker, X., Decock, C. (2021). Effects of Organic Fertilizers on the Soil Microorganisms Responsible for N<sub>2</sub>O Emissions: A Review. *Microorganisms*, 9(5), 983. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9050983>

Lin, H.-C., Huber, J. A., Gerl, G., Hülsbergen, K.-J. (2016). Nitrogen balances and nitrogen-use efficiency of different organic and conventional farming systems. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 105(1), 1–23. <https://doi.org/10.1007/s10705-016-9770-5>

Lin, Q., Brookes, P. C. (1999). An evaluation of the substrate-induced respiration method. *Soil Biology and Biochemistry*, 31(14), 1969-1983. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(99\)00120-0](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(99)00120-0)

Liu, Y. R., Delgado-Baquerizo, M., Wang, J. T., Hu, H. W., Yang, Z., He, J. Z. (2018). New insights into the role of microbial community composition in driving soil respiration rates. *Soil Biology and Biochemistry*, 118, 35-41. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.12.003>

Mangalassery, S., Mooney, S. J., Sparkes, D. L., Fraser, W. T., Sjögersten, S. (2015). Impacts of zero tillage on soil enzyme activities, microbial characteristics and organic matter functional chemistry in temperate soils. *European Journal of Soil Biology*, 68, 9-17. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2015.03.001>

MAPA. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. 2021 Disponible en línea: <https://www.mapa.gob.es/es/> (ingresado 26 Octubre 2022).

Margalef, O., Sardans, J., Maspons, J., Molowny-Horas, R., Fernández-Martínez, M., Janssens, I.A., Richter, A., Ciais, P., Obersteiner, M., Peñuelas, J. (2021). The effect of global change on soil phosphatase activity. *Global Change Biology*, 27, 5989– 6003. <https://doi.org/10.1111/gcb.15832>

Masson-Delmotte, V., P. Zhai, A. Pirani, S. L. Connors, C. Péan, S. Berger, N. Caud, Y. Chen, L. Goldfarb, M. I. Gomis, M. Huang, K. Leitzell, E. Lonnoy, J. B. R. Matthews, T. K. Maycock, T. Waterfield, O. Yelekçi, R. Yu, and B. Zhou (eds.) IPCC, 2021: Climate Change 2021: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA. 2021.

Moreau, D., Bardgett, R. D., Finlay, R. D., Jones, D. L., Philippot, L. (2019). A plant perspective on nitrogen cycling in the rhizosphere. *Funct Ecol.*, 33, 540– 552. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.13303>

Navarro-González, D., Lorenzo-Seva, U. (2021). EFA.MRFA: Dimensionality Assessment Using Minimum Rank Factor Analysis. R package version 1.1.2 <https://CRAN.R-project.org/package=EFA.MRFA>

Nelkner, J., Henke, C., Lin, T. W., Pätzold, W., Hassa, J., Jaenicke, S., Grosch, R., Pühler, A., Sczyrba, A., Schlüter, A. (2019). Effect of Long-Term Farming Practices on Agricultural Soil Microbiome Members Represented by Metagenomically Assembled Genomes (MAGs) and Their Predicted Plant-Beneficial Genes. *Genes*, 10, 424. <https://doi.org/10.3390/genes10060424>

Nkongolo, K. K., Narendrula-Kotha, R. (2020). Advances in monitoring soil microbial community dynamic and function. *J Appl Genet*, 61(2), 249-263. <https://doi.org/10.1007/s13353-020-00549-5>

Oburger, E., Jones, D. L. (2018). Sampling root exudates – Mission impossible? *Rhizosphere*, 6, 116–133. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2018.06.004>

Olayemi, O. P., Schneekloth, J. P., Wallenstein, M. D., Trivedi, P., Calderón, F. J., Corwin, J., Fonte, S. J. (2022). Soil macrofauna and microbial communities respond in similar ways to management drivers in an irrigated maize system of Colorado (USA). *Applied Soil Ecology*, 178, 104562. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2022.104562>

Pereira-Dias, L., Gil-Villar, D., Castell-Zeising, V., Quiñones, A., Calatayud, Á., Rodríguez-Burruezo, A., Fita, A. (2020). Main root adaptations in pepper germplasm (*Capsicum* spp.) to phosphorus low-input conditions. *Agronomy*, 10(5), 637. <https://doi.org/10.3390/agronomy10050637>

Raiche, G., Magis, D. (2022). nFactors: Parallel Analysis and Other Non Graphical Solutions to the Cattell Scree Test. R package version 2.4.1.1 <https://CRAN.R-project.org/package=nFactors>

Revelle, W. (2022). psych: Procedures for Personality and Psychological Research. R package version 2.2.9, <https://CRAN.R-project.org/package=psych>

Ribes-Moya, A. M., Adalid, A. M., Raigón, M. D., Hellín, P., Fita, A., Rodríguez-Burruezo, A. (2020). Variation in flavonoids in a collection of peppers (*Capsicum* sp.) under organic and conventional cultivation: effect of the genotype, ripening stage, and growing system. *J Sci Food Agric*, 100(5), 2208-2223. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10245>

Ribes-Moya, A. M., Morales-Manzo, I. I., Aguilar, C. L., Raigón, M. D., Rodríguez-Burruezo, A. Estudio preliminar de la actividad enzimática fosfatasa alcalina y catalasa en cultivos ecológico y convencional de ecotipos de pimiento (*Capsicum* sp.). In XXVII Jornadas Técnicas de SEAE. VI Congreso Valenciano de Agricultura Ecológica. (244 - 254). Gandía, España: Sociedad Española de Agricultura Ecológica. 2019.

Ribes-Moya, A. M., Raigón, M. D., Moreno-Peris, E., Fita, A., Rodríguez-Burruezo, A. (2018). Response to organic cultivation of heirloom *Capsicum* peppers: Variation in the level of bioactive compounds and effect of ripening. *PloS One*, 13(11), e0207888. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0207888>

Rodríguez-Burruezo, A., González-Mas, M. D. C., Nuez, F. (2010). Carotenoid composition and vitamin A value in ají (*Capsicum baccatum* L.) and rocoto (*C. pubescens* R. & P.), 2 pepper species from the Andean region. *J Food Sci*, 75(8), S446-S453. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01795.x>

Rowell, M. J. (1995). Colorimetric method for CO<sub>2</sub> measurement in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 27(3), 373-375. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(94\)00218-P](https://doi.org/10.1016/0038-0717(94)00218-P)

Sánchez-Cañizares, C., Jorrín, B., Poole, P. S., Tkacz, A. (2017). Understanding the holobiont: the interdependence of plants and their microbiome. *Current Opinion in Microbiology*, 38, 188-196. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2017.07.001>

Sandén, T., Zavattaro, L., Spiegel, H., Grignani, C., Sandén, H., Baumgarten, A., Tirola, M., Mikkonen, A. (2019). Out of sight: Profiling soil characteristics, nutrients and bacterial communities affected by organic amendments down to one meter in a long-term maize experiment. *Applied Soil Ecology*, 134, 54-63. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2018.10.017>

Schmidt, J. E., Kent, A. D., Brisson, V. L., Gaudín, A. C. M. (2019). Agricultural management and plant selection interactively affect rhizosphere microbial community structure and nitrogen cycling. *Microbiome*, 7, 146. <https://doi.org/10.1186/s40168-019-0756-9>

Singh, B. K., Millard, P., Whiteley, A. S., Murrell, J. C. (2004). Unravelling rhizosphere-microbial interactions: opportunities and limitations. *Trends Microbiol*, 12(8), 386-393. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2004.06.008>

Sun, Y., Goll, D. S., Ciais, P., Peng, S., Margalef, O., Asensio, D., Sardans, J., Peñuelas, J. Spatial Pattern and Environmental Drivers of Acid Phosphatase Activity in Europe. *Frontiers in Big Data*, 2020, 2. <https://doi.org/10.3389/fdata.2019.00051>

Swallow, M. J., Quideau, S. A. (2015). A method for determining community level physiological profiles of organic soil horizons. *Soil Science Society of America Journal*, 79(2), 536-542. <https://doi.org/10.2136/sssaj2014.08.0318n>

Tabatabai, M. A. (1982). Soil enzymes. In: *Methods of Soil Analysis, Part 2, Chemical and Microbiological Properties*, 2nd ed.; Page, A. L., Miller, R. H., Keeney, D. R., Eds.; American Society of Agronomy – Soil Science Society of America: Madison, pp. 903-947.

Tabatabai, M. A., Bremner, J. M. (1969). Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphate activity. *Soil Biology and Biochemistry*, 1, 301-307. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(69\)90012-1](https://doi.org/10.1016/0038-0717(69)90012-1)

Tate, R. L. (2000). *Soil Microbiology*. John Wiley & Sons Ltd., New York.

Tkacz, A., Bestion, E., Bo, Z., Hortala, M., Poole, P. S. (2020). Influence of plant fraction, soil, and plant species on microbiota: a multikingdom comparison. *Mbio* 11(1), e02785-19. <https://doi.org/10.1128/mBio.02785-19>

Toljander, J. F., Lindahl, B. D., Paul, L. R., Elfstrand, M., Finlay, R. D. (2007). Influence of arbuscular mycorrhizal mycelial exudates on soil bacterial growth and community structure. *FEMS microbiology ecology*, 61(2), 295-304. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2007.00337.x>

Trevors, J. T., Mayfield, C. I., Innis, W. E. (1982). Measurement of electron transport system (ETS) activity in soil. *Microbial Ecology*, 8, 163-168. <https://doi.org/10.1007/bf02010449>

Tripodi, P., Cardi, T., Bianchi, G., Migliori, C. A., Schiavi, M., Rotino, G. L., Lo Scalzo, R. (2018). Genetic and environmental factors underlying variation in yield performance and bioactive compound content of hot pepper varieties (*Capsicum annuum*) cultivated in two contrasting Italian locations. *Eur Food Res Technol*, 244, 1555–1567. <https://doi.org/10.1007/s00217-018-3069-5>

Vives-Peris, V., de Ollas, C., Gómez-Cadenas, A., (2019). Pérez-Clemente, R.M. Root exudates: from plant to rhizosphere and beyond. *Plant Cell Reports*, 39(1), 3–17. <https://doi.org/10.1007/s00299-019-02447-5>

Wang, C., Morrissey, E. M., Mau, R. L., Hayer, M., Piñeiro, J., Mack, M. C., Marks, J. C., Bell, S. L., Miller, S. N., Schwartz, E., Dijkstra, P., Koch, B. J., Stone, B. W., Purcell, A. M., Blazewicz, S. J., Hofmockel, K. S., Pett-Ridge, J., Hungate, B. A. (2021). The temperature sensitivity of soil: microbial biodiversity, growth, and carbon mineralization. *The ISME Journal*, 15(9), 2738–2747. <https://doi.org/10.1038/s41396-021-00959-1>

Wang, X., Whalley, W. R., Miller, A. J., White, P. J., Zhang, F. and Shen, J. (2020). Sustainable Cropping Requires Adaptation to a Heterogeneous Rhizosphere. *Trends in Plant Science*, 25(12), 1194-1202. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2020.07.006>

Wei, T., Simko, V. (2021). R package 'corrplot': Visualization of a Correlation Matrix (Version 0.92). <https://github.com/taiyun/corrplot>

Wen, Z., Li, H., Shen, J., Rengel, Z. (2017). Maize responds to low shoot P concentration by altering root morphology rather than increasing root exudation. *Plant and Soil*, 416(1–2), 377–389. <https://doi.org/10.1007/s11104-017-3214-0>

Wen, Z., White, P. J., Shen, J., Lambers, H. (2021). Linking root exudation to belowground economic traits for resource acquisition. *New Phytologist*, 233(4), 1620–1635. *Portico*. <https://doi.org/10.1111/nph.17854>

Wickham, H., Averick, M., Bryan, J., Chang, W., McGowan, L.D., François, R., Grolemund, G., Hayes, A., Henry, L., Hester, J., Kuhn, M., Pedersen, T. L., Miller, E., Bache, S.M., Müller, K., Ooms, J., Robinson, D., Seidel, D. P., Spinu, V., Takahashi, K., Vaughan, D., Wilke, C., Woo, K., Yutani, H. (2019). “Welcome to the tidyverse.” *Journal of Open Source Software*, 4(43), 1686. <https://doi.org/10.21105/joss.01686>

Wickham, H., François, R., Henry, L., Müller, K. (2022). dplyr: A Grammar of Data Manipulation. R package version 1.0.10, <https://CRAN.R-project.org/package=dplyr>

Wickham, H., Henry, L., Pedersen, T., Luciani, T., Decorde, M., Lise, V. (2022). svglite: An 'SVG' Graphics Device. R package version 2.1.0, <https://CRAN.R-project.org/package=svglite>

Willer, H., Trávníček, J., Meier, C., & Schlatter, B. Eds. (2021). *The world of organic agriculture 2021-statistics and emerging trends*. Research Institute of Organic Agriculture (FiBL) and IFOAM–Organics International, Bonn, Germany.

Xiao, D., He, X., Wang, G., Xu, X., Hu, Y., Chen, X., Zhang, W., Su, Y., Wang, K., Soromotin, A. V., Alharbi, H. A., Kuzyakov, Y. (2022). Network analysis reveals bacterial and fungal keystone taxa involved in straw and soil organic matter mineralization. *Applied Soil Ecology*, 173, 104395. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2022.104395>

Yang, J., Kloepper, J. W., Ryu, C. M. (2009). Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Trends Plant Sci*, 14(1), 1-4. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.10.004>

Yue, H., Banerjee, S., Liu, C., Ren, Q., Zhang, W., Zhang, B., Tian, X., Wei, G., Shu, D. (2022). Fertilizing-induced changes in the nitrifying microbiota associated with soil nitrification and crop yield. *Science of The Total Environment*, 841, 156752. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.156752>

Zhao, J., Ni, T., Li, Y., Xiong, W., Ran, W., Shen, B., Shen, Q., Zhang, R. (2014). Responses of Bacterial Communities in Arable Soils in a Rice-Wheat Cropping System to

Different Fertilizer Regimes and Sampling Times. PLoS ONE, 9(1), e85301.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085301>

Zheng, Q., Hu, Y., Zhang, S., Noll, L., Böckle, T., Dietrich, M., Herbold, C. W., Eichorst, S. A., Woebken, D., Richter, A., Wanek, W. (2019). Soil multifunctionality is affected by the soil environment and by microbial community composition and diversity. *Soil Biology and Biochemistry*, 136, 107521. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2019.107521>

**Producto de esta investigación, se ha enviado para su publicación en la revista *Plants* (MDPI) (número especial, 2023) el artículo “*Root-soil interactions for pepper accessions grown under organic and conventional farming*”. Al momento del depósito de la presente tesis se encuentra bajo revisión.**

**5. Capítulo 3: Efectos del manejo del suelo y la diversidad de cultivos de *Capsicum* en las comunidades microbianas del suelo.**



## 5.1. Introducción

La colonización terrestre de las plantas ocurrió gracias a interacciones mutualistas con microbios hace eras. Esta antigua relación continuó diversificándose hasta nuestros días. Estas interacciones son complejas y hoy en día pueden abordarse a través de técnicas de secuenciación masiva, lo que nos permite conocer no solo la identidad de los microbios en diferentes muestras ambientales u hospederos, sino también su metagenoma, o como lo llamaron en Gilbert *et al.* (2018), el "hologenoma" como la suma de los genomas del hospedante y del simbiote, una entidad biológica única resultado de una historia evolutiva compartida que sufrió presiones de selección comunes, evolucionó y puede transmitirse a la siguiente generación. Las interacciones planta-simbiote están mediadas por carbono orgánico, ácidos orgánicos u otros metabolitos que se comparten dentro de las células del hospedador o a través de exudados radiculares (Cook *et al.*, 1995 y Weller *et al.*, 2002). Entre las diferentes interacciones beneficiosas para las plantas, se puede mencionar la promoción del crecimiento y la mejora en la absorción de nutrientes y agua (Jiménez-Pérez *et al.*, 2022). La supresión de enfermedades transmitidas por el suelo es otro fenómeno de interacción beneficiosa que refleja cómo estas interacciones complejas pueden ser interdependientes. En el trigo, se ha estudiado ampliamente cómo algunos genotipos de plantas son capaces de reclutar bacterias contra patógenos fúngicos, como *Pseudomas spp.* que producen un metabolito llamado 2,4-diacetilfloroglucinol, una molécula antifúngica (Weller *et al.*, 2002). Curiosamente, este tipo de supresión solo está activo mientras los cultivos están en el campo después de cuatro o seis temporadas, pero puede cambiar si se siembran otros genotipos o cultivos. Esta es una buena alternativa a los pesticidas y la resistencia genética, ya que pueden generar patógenos resistentes o eludir la resistencia de las plantas. Se han encontrado muchos suelos supresivos diferentes para diferentes patógenos como *Fusarium spp.* Link ex Grey, *Meloidogyne spp.* Göldi, *Phytophthora spp.* de Bary y *Pythium spp.* Pringsh. (Weller *et al.*, 2002). En la familia *Solanaceae*, solo se ha informado para patatas afectadas por

*Streptomyces scabies* Lambert & Loria (Menzies, 1959). En campos con un largo historial de uso para este cultivo (más de 15 años), el patógeno estaba ausente, pero en campos nuevos, la enfermedad atacó al cultivo. Como producto de interacciones a largo plazo, este carácter está vinculado a los hospedantes, las características fisicoquímicas del suelo y el manejo del cultivo. Es por lo que debe reconocerse como señalan los principios 2 y 4 de la Carta Mundial del Suelo, los suelos y toda su biodiversidad y servicios ecosistémicos son el resultado de interacciones en el tiempo, especialmente el manejo local y sus formas de vida

Aunque se ha descrito que la rizosfera de distintos tipos de pimiento puede tener características distintas, principalmente debido a sus exudados o morfología radicular (Morales-Manzo *et al.*, 2023, sin publicar). Hasta la fecha existe un desconocimiento importante de qué tipo de comunidades microbianas son frecuentes en las rizosferas de este cultivo e incluso de qué endófitos pueden colonizar este cultivo. Esta información sería de gran interés en desentrañar los holobiontes del pimiento en campos con distintos tipos de manejo. Así el objetivo del presente trabajo fue comparar los microbiomas del suelo, de las rizosferas y de las raíces de diversos pimientos cultivados en condiciones de cultivo ecológico y convencional.

## 5.2. Materiales y métodos

### 5.2.1. Campo y material vegetal

El campo de estudio se encuentra en la *Marjal del Moro* (Valencia, España; 39° 37' 56.3" N, 0° 16' 04.3" O), con una superficie total de 1288 m<sup>2</sup>. En 2019, el campo se dividió en dos partes mediante una hilera de maíz. Una parte fue tratada como agricultura convencional y la segunda como agricultura orgánica (Figura 14). Elegimos material vegetal diverso de tres especies para maximizar sus posibles efectos sobre la microbiota del suelo: *Capsicum annuum*: Bola (DOP Pimentón de Totana, Murcia, España), California Wonder Red (línea de mejora COMAV, Valencia, España), Piquillo (DOP Piquillo, Navarra, España) y Serrano (México. Reimer's Seeds Co.); C.

*baccatum*: BOL-58 (Cochabamba, Bolivia); *C. chinense*: ECU-994 (Archidona, Napo, Ecuador); los híbridos Bola x Serrano (Híbrido A; COMAV) y California Red x ECU-994 (Híbrido B; COMAV). Las ocho accesiones se sembraron en tres bloques de cinco plantas en cada campo el 15 de mayo de 2019 y se cosecharon el 20 de septiembre de 2019.

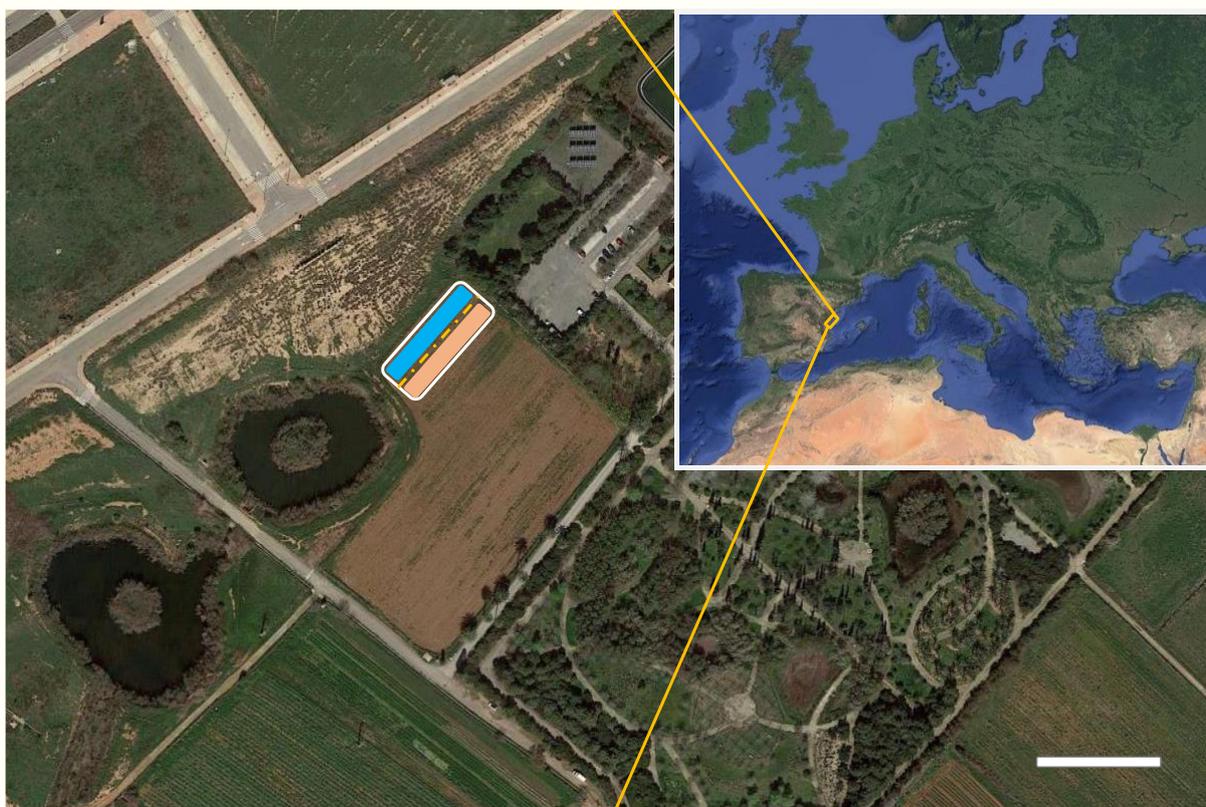


Figura 14. Campo de estudio en Marjal del Moro. Las dos partes con prácticas convencionales y orgánicas se marcan en azul y naranja pálido, respectivamente. La línea naranja discontinua representa la hilera de maíz. La barra denota 50 m. Los mapas fueron adquiridos de Google Maps (<https://www.google.com/maps/@39.6315669,-0.2666223,809m/data=!3m1!1e3>; accessed: 7<sup>th</sup> February, 2023).

Medimos diferentes variables para caracterizar las características de las raíces, el contenido mineral en las hojas y la biomasa de las plantas, así como producimos algunas variables combinadas (Tabla 15). Además de los materiales de las raíces, también recolectamos muestras de suelo para caracterizar la diversidad microbiana.

Tabla 15. Lista de variables analizadas, código identificador y unidades de medida.

Categoría	Variable	Código.	Unidades
Variables radicales			
	Largo total	LT	cm
	Area superficial	AS	cm <sup>2</sup>
	Diámetro promedio	DP	cm
	Volumen total	VT	cm <sup>3</sup>
	Número de ápices	NA	ápices
	Largo total de raíces con diámetro < 0,05 mm	< 0,5	cm
	Largo total de raíces con diámetro de 0,05 a 2,00 mm	0,5-2,0	cm
	Largo total de raíces con diámetro > 2,00 mm	> 2,0	cm
	Número de horquillas	NH	horquillas
Contenido mineral			
	Boro (B)	B	mg/100 g de materia seca
	Calcio (Ca)	Ca	mg/100 g m. s.
	Cobalto (Co)	Co	mg/100 g m. s.
	Cobre (Cu)	Cu	mg/100 g m. s.
	Hierro (Fe)	Fe	mg/100 g m. s.
	Potasio (K)	K	mg/100 g m. s.
	Magnesio (Mg)	Mg	mg/100 g m. s.
	Manganeso (Mn)	Mn	mg/100 g m. s.
	Fósforo (P)	P	mg/100 g m. s.
	Silicio (Si)	Si	mg/100 g m. s.
	Zinc (Zn)	Zn	mg/100 g m. s.
Biomasa			
	Tocón, peso fresco	TF	g
	Tocón, peso seco	TD	g

Raíz, peso fresco	RF	g
Raíz, peso seco	RD	g
Hojas, peso fresco	HF	g
Hojas, peso seco	HD	g
Rendimiento, peso total de frutos	Y	kg
Fruto, peso medio	FM	g
Fruto, peso fresco	FF	g
Fruto, peso seco	FD	g
Variables combinadas		
Densidad de raíces (RD / VT)	DR	g/m <sup>3</sup>
Densidad de ramificación (NH / LT)	DH	horquillas/cm
Tocón, contenido de agua	TWC	%
Hojas, contenido de agua	HWC	%
Raíz, contenido de agua	RWC	%
Fruto, contenido de agua	FWC	%

### 5.2.2. Caracteres morfológicos y químicos

Solo utilizamos la planta en el medio de cada bloque para todos los análisis de plantas y rizosfera (n = 6 plantas por accesión) para evitar la posible interferencia de las raíces de otras accesiones en los límites de cada bloque. Durante la cosecha de la planta, recolectamos una muestra de suelo y raíces a una profundidad de 25-30 cm, que se transfirió en condiciones estériles a un tubo con 25 ml de solución tampón de fosfato (Calbiochem-Merck, 2003), pH = 7,4, y almacenado en hielo para su posterior análisis (ver siguiente subsección).

Las plantas se trasladaron a los laboratorios y se midieron diferentes caracteres de tocones y raíces de las plantas (Tabla 15). Para evaluar la biomasa, se pesaron los tallos, las hojas y las raíces (peso fresco, Tabla 15), luego se secaron durante tres días a 65 °C, hasta alcanzar un peso constante, y luego se pesaron nuevamente (peso seco, Tabla

15). Los frutos se secaron mediante liofilización. Estos datos nos permitieron calcular nuevas variables como la densidad de raíces (DR, peso seco (g) dividido por volumen ( $\text{cm}^3$ )), la densidad de ramificación en raíces (DH, número de horquillas dividido por longitud total) y el contenido de agua en tocones, hojas, raíces y frutos con la siguiente fórmula ( $\text{WC} (\%) = [(\text{peso fresco} - \text{peso seco}) * \text{peso fresco}^{-1}] * 100$ ).

Las muestras secas de hojas se molieron para la posterior determinación de minerales (B, Ca, Co, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P, Si y Zn) siguiendo los procedimientos del MAPA (MAPA, 1994), según lo descrito en Raigón *et al.* (2010).

La tabla con los resultados estadísticamente significativos del análisis del efecto del tratamiento, las especies de *Capsicum* (con el nombre de *KRUSKALW\_VAR\_VEG\_TRAT\_SPP.csv*) y accesiones (con el nombre de *KRUSKALW\_VAR\_VEG\_ACCESIONES.csv*) en caracteres morfológicos y químicos del material vegetal evaluados y el resto de los materiales suplementarios puede encontrarse en el repositorio [https://github.com/ivaethia/pepper\\_microbiome](https://github.com/ivaethia/pepper_microbiome)

### 5.2.3. Extracción de ADN de suelo, rizosferas y raíces

Las muestras de suelo, rizosferas y raíces se sonicaron durante 10 minutos (Simmons *et al.*, 2018). Luego, las raíces se separaron cuidadosamente del suelo y se esterilizaron superficialmente con lejía al 50% durante 60 segundos, etanol al 70% durante 60 segundos y se lavaron con agua estéril. Los suelos se filtraron y centrifugaron durante 10 minutos a 4 °C y 4,000 g para separar las fases sólida y líquida. Tuvimos 48 muestras de raíces y 54 de suelo (48 muestras de suelo de la rizosfera y tres controles de suelo por tratamiento).

Las extracciones de ADN de las raíces se realizaron siguiendo el protocolo de extracción de ADN SILEX (Vilanova *et al.*, 2020). El peso medio del tejido de la raíz por muestra fue de 0,23 g y el rendimiento medio de ADN fue de 164,00 ng  $\text{g}^{-1}$  de tejido de raíz. Las extracciones de ADN del suelo se realizaron con el kit "FastDNA™ SPIN Kit for Soil" de MP Biomedicals. El peso medio del suelo por muestra fue de 0,48 g y

el rendimiento medio de ADN fue de 46,59 ng g<sup>-1</sup> de suelo (medido por Qubit, kit "dsDNA Quantitation, broad range").

#### 5.2.4 Secuenciación y análisis de microbiomas.

La secuenciación de la región ribosomal del 16S ARNr para procariotas (regiones hipervariables V3-V4; con cebadores 341F y 805R) y el Espaciador Transcrito Interno 1 ARNr para eucariotas (ITS1; con cebadores ITS1F e ITS2) se llevó a cabo en el *Centre d'Expertise et de Services Génome Québec* (Canadá) con Illumina MiSeq PE 300pb.

Los datos brutos de secuenciación se importaron, filtraron por calidad y se asignaron taxonómicamente en el paquete de análisis *Qiime2* (ver. 2021.2; Bolyen *et al.*, 2019). Se utilizaron dos bases de datos de referencia para el análisis, una para 16S: base de datos de referencia SILVA versión 138 (Robeson *et al.*, 2020) con secuencias representativas de identidad completa al 99%; y la otra, para ITS1: una base de datos de referencia híbrida basada en UNITE versión 8.3, al 99% de identidad (Abarenkov *et al.*, 2021) y los principales resultados del BLAST en el proyecto NCBI - ITS (Bengtsson-Palme *et al.*, 2013). Estas bases de datos de referencia se entrenaron utilizando el complemento "feature-classifier": primero "extract-reads" para 16S con cebadores directo - CCTACGGGNGGCWGCAG- e inverso -GACTACHVGGGTATCTAATCC-, y para ITS1, cebadores directo CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA e inverso GCTGCGTTCTTCATCGATGC. Luego, con el complemento "-fit-classifier-naive-bayes" se entrenaron como clasificadores. Cada conjunto de datos importado (16S y ITS1) se recortaron las secuencias y eliminaron las quimeras (con el complemento *dada2* recortando a partir de puntuaciones de calidad de *Phred* mínimo de 30). Además, realizamos un control de calidad con una identidad mínima al 70% y un alineamiento mínimo al 90% en ambos conjuntos de secuencias. Utilizando nuestros clasificadores entrenados, se asignaron taxonómicamente las variantes de secuencia exactas (ESV, por sus siglas en inglés) que superaron el control de calidad. Luego, se filtraron

nuevamente para excluir todas las asignaciones que usaran los siguientes términos: *chloroplast*, *k\_\_Viridiplantae*, *k\_\_unidentified*, *mitochondria*, *o\_\_uncultured*, y *Unassigned* de taxones hasta el nivel de orden. Como después de la asignación taxonómica y el filtrado, todavía encontramos muchos códigos, números o palabras inespecíficas (por ejemplo, *bacteria* como nombres de género o especie) utilizados como etiquetas taxonómicas (debido a taxonomías incompletas en las bases de datos de referencia), exportamos nuestros resultados de Qiime2. Para eliminar estas asignaciones inespecíficas, tuvimos que asignar manualmente al nivel taxonómico conocido más cercano los recuentos de ESVs tanto para especies como para familias (un conjunto de datos para cada nivel taxonómico), cuando estaban disponibles, y otros grupos a uno o varios niveles taxonómicos superiores (pueden identificarse por el prefijo: "*Unid\_*" o "*Unidentified\_*"). Esta última tarea se realizó en Excel (Microsoft® Excel® para Microsoft 365 MSO, versión 2302, compilación 16.0.16130.20186, de 64 bits) y LibreOffice Calc (versión 7.0.4.2, de 64 bits) utilizando funciones incorporadas para finalmente tener nuestros datos listos para ser analizados. Las funciones utilizadas se pueden encontrar como *spreadsheet\_funct.txt* en el repositorio.

#### 5.2.5. Análisis estadístico, de diversidad, taxa núcleo y visualización gráfica

Los datos morfológicos y químicos se analizaron con IBM © SPSS © Statistics versión 25. Primero, calculamos una matriz de correlación exploratoria entre todos los pares de las 36 variables cuantitativas para averiguar qué variables juegan un papel significativo en los cultivos. No había variables no correlacionadas (con todos los valores absolutos en la matriz de correlación por debajo de 0.3), sin embargo, la prueba de Kaiser-Meyer-Olkin (KMO) produjo valores muy bajos (0.490) o mediocres (0.609), incluso después de eliminar del análisis las variables combinadas. Las cargas tuvieron valores entre 0.673 y 0.981, por lo que el tamaño de la muestra podría ser inadecuado para el análisis factorial.

Muchas de las variables estudiadas no cumplieron con los supuestos del ANOVA. Por lo tanto, realizamos pruebas de Kruskal-Wallis y comparaciones por pares ajustadas después de la corrección de Bonferroni.

La diversidad de bacterias y hongos se analizó en PAST 4.09 (Hammer *et al.*, 2001) utilizando el conjunto de datos de ESVs a nivel de especie. Calculamos índices de diversidad alfa para describir nuestras muestras (Morris *et al.*, 2014): total de taxones ( $S$ ), número de individuos ( $I$ ), dominancia de Simpson ( $D$ ), y  $H$  de Shannon ( $H$ ). Utilizamos el ACE para la corrección de  $S$  para ajustar las especies faltantes y la cobertura de la muestra. Luego, para analizar las diferencias entre tratamientos y entre especies vegetales o accesiones, realizamos comparaciones de prueba  $t$  por pares de la  $D$  de Simpson y la  $H$  de Shannon, y corregimos las diferencias significativas después de llevar a cabo la corrección de Bonferroni secuencial de Holm (Holm, 1979).

Construimos un perfil de taxa representativos (recuentos de ESVs de especies) para cada conjunto de muestras (conjuntos creados: Orgánico, Convencional, *C. annuum*, *C. baccatum* = BOL-58, *C. chinense* = ECU-994, *Serrano* × *Bola* = Híbrido A, *California Wonder Red* × ECU-994 = Híbrido B, *Bola*, *California Wonder Red*, *Piquillo*, *Serrano*) seleccionando los taxa nucleares solo si estaban presentes en al menos el 25 % del conjunto de muestras deseado (Simonin *et al.*, 2020). Para el proceso de selección, creamos una función en Python para verificar en cada conjunto de muestras la presencia en porcentaje de cada especie microbiana o grupos superiores (el script de Python se puede encontrar como *plugin\_percentage.py* en el repositorio). Con estos nuevos valores, filtramos y conservamos solo los grupos taxonómicos que superaron el umbral y creamos otra función en Python para obtener las abundancias totales y relativas por muestra en estos nuevos contextos taxonómicos centrales (el script de Python se puede encontrar como *plugin\_core\_abund\_nd\_relabund.py* en el repositorio). Utilizamos la prueba de Mann-Whitney (Wilcoxon) para comparar conjuntos de muestras (por ejemplo, frecuencias de *Aspergillus sp.* en muestras de conjuntos nucleares de Convencional y Orgánico). Para la comparación de múltiples muestras,

realizamos una prueba de Kruskal-Wallis (por ejemplo, frecuencias de *Aspergillus sp.* en muestras de conjuntos nucleares de *C. annuum*, *C. baccatum*, *C. chinense*, Híbrido A e Híbrido B).

Se construyeron gráficos de "burbujas" con abundancias totales y relativas de taxa nucleares a partir del código para crear gráficos de "burbujas" de Simonin *et al.* (2020) (versión modificada y usada como *blubbleplot\_improved.R* en el repositorio) y gráficos de barras con abundancias relativas de taxones centrales para parentales e híbridos (*Bola*, *Serrano y Serrano* × *Bola*; *California Wonder Red*, *ECU-994* y *California Wonder Red* × *ECU-994*). Para facilitar la visualización, utilizando diferentes umbrales, se filtraron los datos de taxa nucleares: los grupos "*Unidentified\_*" se excluyeron en hongos y bacterias; la abundancia relativa en hongos fue >0,01% para los conjuntos orgánico y convencional, y >0,1% para el resto de los conjuntos de taxa nucleares; en bacterias fue >0,5% para cada conjunto nuclear.

### 5.3. Resultados

#### 5.3.1. Caracteres morfológicos y químicos

El tratamiento convencional produjo frutos más pesados, tanto en peso fresco como en peso seco, en comparación con el tratamiento orgánico (tabla suplementaria con el nombre de *KRUSKALW\_VAR\_VEG\_TRAT\_SPP.csv* en el repositorio). Encontramos efectos significativos generales de las especies para las siguientes variables (tabla suplementaria con el nombre de *KRUSKALW\_VAR\_VEG\_TRAT\_SPP.csv* en el repositorio): 1) el diámetro promedio de la raíz fue mayor en las plantas del Híbrido A en comparación con *C. baccatum*; 2) las longitudes totales de las raíces y el número de horquillas de las raíces de *C. chinense* fueron mayores que las de *C. annuum* o el Híbrido A; pero *C. chinense* tuvo el contenido de agua más bajo en tocones y un menor contenido de agua en las raíces que el Híbrido A, pero un mayor contenido de agua en las hojas que *C. annuum*; *C. chinense* y el híbrido B produjeron rendimientos más altos que *C. annuum* y *C. baccatum*; los frutos

frescos de *C. annuum* fueron más pesados que los de *C. baccatum*; el Híbrido B mostró una mayor densidad de raíces que *C. annuum* o *C. baccatum*, y *C. chinense* que *C. baccatum*; *C. chinense* y el Híbrido B tuvieron los valores más altos para la relación de ramificación y *C. annuum* los más bajos; el Híbrido A tuvo los valores más altos para B y Ca, y *C. baccatum* y *C. chinense* los más bajos; pero *C. annuum* exhibió valores más altos de Ca en las hojas que *C. baccatum* o el Híbrido A, y de Cu que *C. chinense*; *C. baccatum* tuvo valores más altos de K que *C. chinense*; *C. annuum* tuvo una mayor concentración de Zn que *C. baccatum* o *C. chinense*.

El análisis no paramétrico encontró diferencias entre las accesiones de *Capsicum* (tabla suplementaria con el nombre de *KRUSKALW\_VAR\_VEG\_ACCESIONES.csv* en el repositorio): para LT, AS, DP, VT, NA, 0,5-2,0, > 2,0, *Bola* y *California Wonder Red* mostraron los valores más bajos y *Serrano* los más altos. Para < 0,5, > 2,0, NH, *ECU-994* tuvo los valores más altos. Para TF, TD, ambos híbridos y *Serrano* tuvieron valores más altos que los de *Bola* o *California Wonder Red*. Sin embargo, para TWC, *California Wonder Red*, *Bola* y *BOL-58* produjeron los valores más altos, y *ECU-994* los más bajos.

### 5.3.2. Secuenciación

La secuenciación de muestras del fragmento del gen ARNr 16S generó más de tres millones de secuencias, con un rango de ocho a cincuenta y dos mil secuencias por muestra. Después de recortar (calidad mínima *Phred* de 30), eliminar quimeras (*dada2*, *Qiime2*), control de calidad (*quality-control*, *Qiime2*), asignación taxonómica (*feature-classifier*, *Qiime2*), filtrado (*filter-table*, *Qiime2*), tuvimos una frecuencia total final de 827.710 en 96 muestras con 13.466 ESVs totales. Para la secuenciación del fragmento del ITS1: más de cuatro millones de secuencias, con un rango de 12 y 61 mil por muestra. La frecuencia total final fue de 2.049.056 en 101 muestras con 1.197 ESVs totales.

### 5.3.3. Grupos de microorganismos identificados e índices de diversidad de los microbiomas

Para cada muestra se evaluó el porcentaje de presencia de cada una de las familias identificadas, así en las muestras de suelo control o sin cultivar (independientemente del sistema de cultivo) se observó que 7 familias de hongos y 14 familias de bacterias (Figura 15) presentaban un porcentaje de abundancia relativa promedio superior al 2 %, representando estas familias el 91 % y 52 % del total, respectivamente, de los microorganismos detectados. La representación de las distintas familias de hongos varió ligeramente dependiendo de que se estuvieran analizando los suelos control o de la rizosfera. Así, si bien en los controles y las rizosferas fueron muy abundantes familias de hongos como: *Chaetomiaceae* (45,5% control - 30,1% rizosfera), *Nectriaceae* (21,8% control - 26,4% rizosfera), *Pyronemataceae* (3,8% control - 3,9% rizosfera), *Togniniaceae* (10,3% control - 3,5% rizosfera) y *Mortierellaceae* (3,4% control - 8,8% rizosfera), algunas familias sólo superaron el umbral del 2% en la rizosfera: *Pleosporaceae* (< 2% control - 7,7% rizosfera), *Hypocreales* no identificados (< 2% control - 4,2% rizosfera), *Piskurozymaceae* (< 2% control - 3% rizosfera) y *Psathyrellaceae* (< 2% control - 2,9% rizosfera) (Figura 15). En el caso de las bacterias la lista de las representadas con un valor mayor del 2% fue prácticamente igual (salvo dos excepciones) entre control y rizosfera, aunque con distinta abundancia, estando ampliamente representados (> 3%): *Gemmatimonadaceae*, *Chloroflexis* no identificados, *Nitrosomonadaceae*, *Vicinamibacteraceae*, *Gemmatimonadaceae*, *Planctomycetota*, *Actinobacteriota*, *Nocardiodaceae* (Figura 15).

Sin embargo, la representación de familias en la raíz tanto de hongos como de bacterias fue muy distinta a la observada en los controles o en rizosferas. Por ejemplo, las únicas familias de hongos que se observaron en el control que se encontraron también en la raíz fueron *Nectriaceae*, *Chaetomiaceae*, *Mortierellaceae*, ocurriendo *Hypocreales* no identificados y *Pleosporaceae* con frecuencia mayor del 2% en rizosferas y raíz, pero no en el control. El caso de las bacterias es más impactante ya que ninguna



ellas creciendo exclusivamente en el tratamiento convencional. También se encontraron cinco hongos patógenos: *Macrophomina phaseolina*, *Podosphaera xanthii*, *Cladosporium aciculare* y *Cladosporium rhusicola* y *Gibberella fujikuroi*. También como exclusivo de raíz se encontró una especie de *Thaumatomonas sp.* del filo *Cercozoa*. En cuanto a las bacterias endógenas de raíz destacaron 15 que aparecen como no cultivables en medio bacteriológico (*candidatus*) como *Nitrosotalea* también se encontraron dos especies del orden *Rhizobiales* y de la familia *Xanthomonadaceae*.

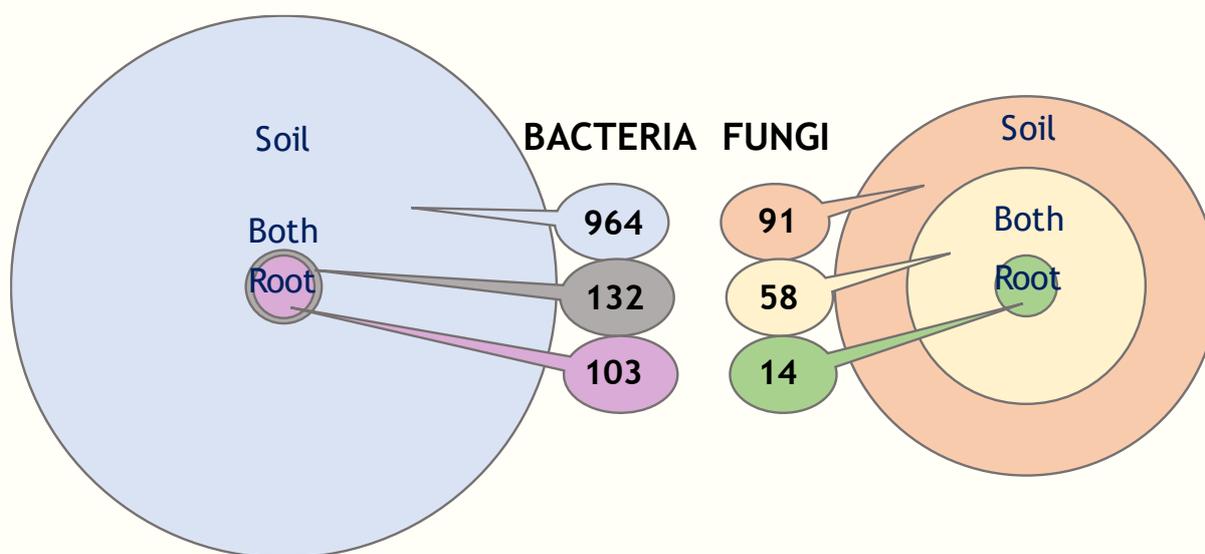


Figura 16. Muestreo de hongos y bacterias. Los círculos exteriores representan el número de taxa encontrados exclusivamente en los suelos, los círculos interiores los taxa que solo ocurrieron dentro de las raíces y los círculos intermedios representan el número de taxa que se encontraron tanto dentro de las raíces como en las muestras de suelo únicamente rizosférico. Los círculos son proporcionales al número de taxa, que se muestra dentro de cada globo de diálogo. Root = Raíces, Both = Ambas zonas de muestreo y Soil = Suelo Control y Rizosférico.

Como era de esperar tras el análisis descriptivo, al analizar por tipos de muestras (controles, rizosferas y raíces) existieron diferencias en sus índices de diversidad de Simpson y de Shannon (Figura 17A y B y 18A y B, Tabla 16). En el caso de los hongos la dominancia de Simpson de especies fue mayor en suelo rizosférico que en raíces mientras que en el caso de las bacterias ocurrió lo contrario.

Tabla 16. Diversidad alfa fúngica y bacteriana en muestras de suelo control, rizosférico, raíces y desagrupadas por sistema de cultivo. Taxa totales (S), número de individuos (I), Dominancia de Simpson (D), H de Shannon (H).

	S	I	D	H	S	I	D	H
	<i>Fungi</i>				<i>Bacteria</i>			
Suelos y raíces								
Rizosferas	145	360.694	0,157	2,385	1060	741.347	0,008	5,415
Control	53	147.458	0,113	2,581	405	70.587	0,010	5,138
Raíces	72	540.904	0,055	3,206	235	15.776	0,020	4,694

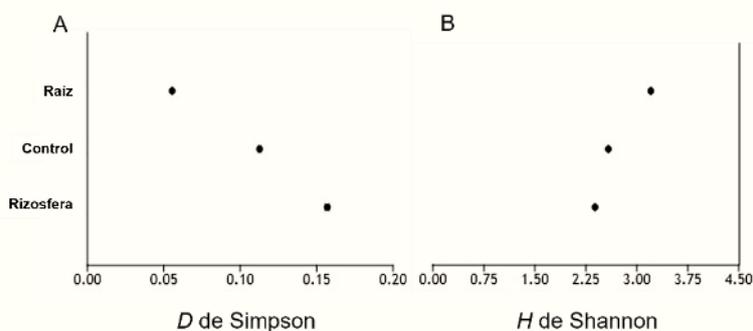


Figura 17. Índices de dominancia de Simpson y diversidad de Shannon para comunidades fúngicas en suelos y raíces. A y B: índices de diversidad para cada grupo de muestras.

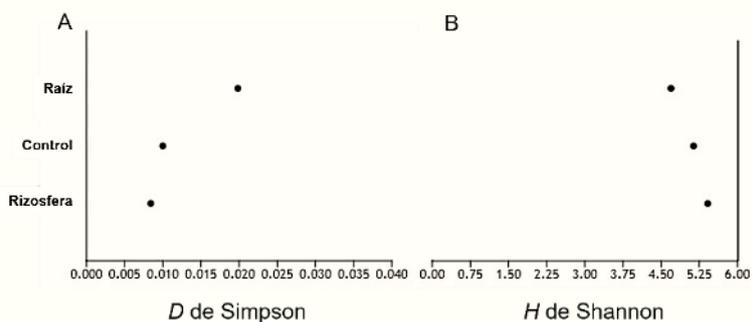


Figura 18. Índices de dominancia de Simpson y diversidad de Shannon para comunidades bacterianas en suelos y raíces. A y B: índices de diversidad para cada grupo de muestras.

5.3.4. Comparación entre el microbioma específico por tipo de sistema de cultivo y especie cultivada

Aunque los dos manejos de cultivo se realizaron en dos partes diferentes de una misma parcela se observaron diferencias significativas entre los índices de diversidad para el manejo convencional y para el manejo ecológico (Figura 19C y D y 20C y D, Tabla 17, 18 y 19). Las muestras más diversas fueron las de raíz en convencional que mostraron gran predominancia de algunas especies de acuerdo con el índice de Simpson.

Tabla 17. Diversidad alfa fúngica y bacteriana en muestras de suelo control, rizosférico, raíces desagrupadas por sistema de cultivo. Taxa totales (S), número de individuos (I), Dominancia de Simpson (D), H de Shannon (H).

	S	I	D	H	S	I	D	H
	<i>Fungi</i>				<i>Bacteria</i>			
Dentro de tratamiento								
Rizosferas con.	114	765.202	0,154	2,410	865	391.486	0,009	5,379
Rizosferas org.	115	669.526	0,154	2,387	782	360.709	0,009	5,366
Control con.	47	74.034	0,122	2,529	334	42.647	0,010	5,109
Control org.	25	73.424	0,119	2,399	235	27.940	0,013	4,824
Raíces con.	54	268.530	0,078	2,871	98	7.466	0,037	3,839
Raíces org.	48	272.374	0,082	2,873	160	8.310	0,017	4,617

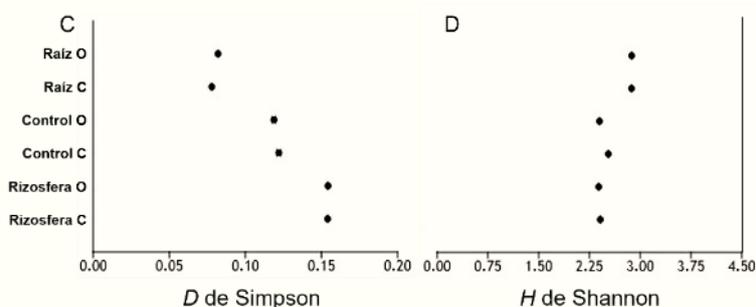


Figura 19. Índices de dominancia de Simpson y diversidad de Shannon para comunidades fúngicas en suelos y raíces C y D mostrando la interacción con el tratamiento.

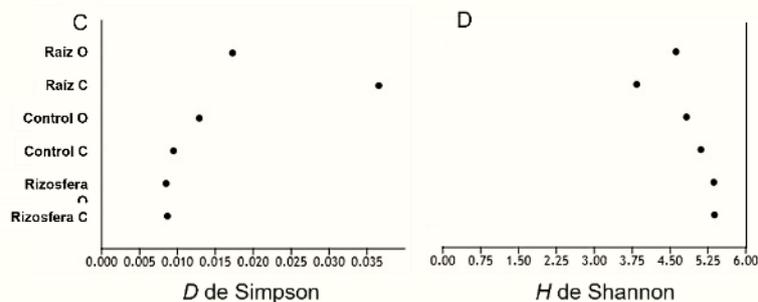


Figura 20. Índices de dominancia de Simpson y diversidad de Shannon para comunidades bacterianas en suelos y raíces. C y D mostrando la interacción con el tratamiento.

Tabla 18. Diferencias en los índices de dominancia de Simpson y diversidad de Shannon en especies fúngicas. Comparaciones de pruebas *t* por pares y donde los valores en negrita indican diferencias significativas después del procedimiento secuencial de Bonferroni de Holm (Holm, 1979).

	D de Simpson			H de Shannon		
	<i>t</i>	G.L.	Valor-P	<i>t</i>	G.L.	Valor-P
Rizosferas C vs Rizosferas O	-0,638	1.422.700	0,524	9,597	1.411.700	< 0,001
Control C vs Control O	4,092	143.130	< 0,001	23,346	139.010	< 0,001
Rizosferas C vs Control C	49,654	102.510	< 0,001	-25,332	95.497	< 0,001
Rizosferas O vs Control O	63,366	117.290	< 0,001	-3,071	115.330	0,002
Raíces C vs Raíces O	-13,626	520.980	< 0,001	-1,053	540.900	0,292

Tabla 19. Diferencias en los índices de dominancia de Simpson y diversidad de Shannon en bacterias. Comparaciones de pruebas *t* por pares y donde los valores en negrita indican diferencias significativas después del procedimiento secuencial de Bonferroni de Holm (Holm, 1979).

	D de Simpson			H de Shannon		
	<i>t</i>	G.L.	<i>t</i>	G.L.	<i>t</i>	G.L.
Rizosferas C vs Rizosferas O	4,471	751.660	< 0,001	4,361	750.000	< 0,001
Control C vs Control O	-19,618	44.954	< 0,001	35,389	60.185	< 0,001
Rizosferas C vs Control C	-9,292	52.590	< 0,001	49,275	58.941	< 0,001
Rizosferas O vs Control O	-28,547	29.823	< 0,001	82,435	35.134	< 0,001
Raíces C vs Raíces O	21,156	11.967	< 0,001	-44,637	15.093	< 0,001

### 5.3.5. Grupos de taxa nucleares

Entre todos los conjuntos de taxa nucleares, los hongos tuvieron 52, de los cuales el 23% se clasificaron como grupos no identificados (tabla completa de las especies de hongos y bacterias identificadas como nucleares con prevalencias y abundancias relativas puede encontrarse como *CORE\_TAXA.csv* en el repositorio). Para las bacterias fueron 347, con un 61% de grupos no identificados.

En la tabla 20 se muestran los 50 taxones con mayor prevalencia en suelo convencional y sus respectivas prevalencias y abundancias relativas para los distintos tipos de diferentes conjuntos de muestras. Las dos principales especies de hongos entre todos los conjuntos de taxones centrales fueron *Fusarium spp.*, con un rango de prevalencia del 50% al 83% y una abundancia relativa media del 1% al 25%, y *Chaetomium spp.*, con una prevalencia del 45% al 75% y una abundancia relativa media del 3% al 19%. Para las bacterias, *Bacillus sp.* y *Nocardioides sp.* fueron las dos principales especies, con una prevalencia del 50% al 72% y del 50% al 63%, y una abundancia relativa media del 8% al 18% y del 0,86% al 1,82%, respectivamente. Aunque las prevalencias y abundancias relativas de hongos y bacterias fueron distintas entre los distintos manejos de cultivo, entre especies cultivadas o incluso entre accesiones, las pruebas estadísticas no mostraron que estas diferencias fueran significativas, salvo en contadas ocasiones (Figuras 21 y 22).

Tabla 20. Los 50 principales taxones de cada conjunto de muestras. G (grupo): B, bacterias; F, hongos. ID: especie o nivel taxonómico evaluado más cercano. Tratamiento: Conv, convencional, org= ecológico. Datos proporcionados como prevalencia (P) y abundancia relativa (AR) en %. En las últimas dos columnas aparecen datos coincidentes de taxones principales de Simonin et al. (2020) a nivel de género.

G	ID	Conv		Org		<i>C. annuum</i>		<i>C. baccatum</i>		<i>C. chinense</i>		Híbrido A		Híbrido B		Bola		California		Piquillo		Serrano		Simonin 2020	
		P	AR	P	AR	P	AR	P	AR	P	AR	P	AR	P	AR	P	AR	P	AR	P	AR	P	AR	P	AR
B	<i>Streptomyces sp</i>	81,63	18,77	57,45	6,18	73,33	13,32	75,00	20,84	66,67	11,46	72,73	6,62	70,00	12,24	81,82	12,13	81,82	8,84	63,64	4,73	66,67	17,33	33	0,03
F	<i>Fusarium solani</i>	62,75	6,15	62,00	3,99	59,57	5,51	58,33	6,76	75,00	6,41	50,00	1,19	58,33	3,09	50,00	2,78	75,00	9,11	58,33	8,31	54,55	1,33	82,38	1,69, 0,44
B	<i>Bacillus sp</i>	61,22	11,03	70,21	14,10	66,67	13,82	50,00	16,07	58,33	10,16	72,73	8,39	70,00	16,61	63,64	9,42	72,73	9,28	63,64	18,60	66,67	15,48	42,40	0,23, 0,08
F	<i>Fusarium proliferatum</i>	60,78	19,01	64,00	17,99	53,19	14,86	66,67	16,79	83,33	22,83	58,33	22,33	66,67	25,02	58,33	12,00	50,00	16,82	50,00	14,12	54,55	16,14	82,38	1,69, 0,44
F	<i>Chaetomium sp</i>	58,82	7,29	58,00	5,85	57,45	5,86	50,00	3,16	58,33	12,63	50,00	3,89	58,33	6,87	58,33	6,89	75,00	7,34	50,00	5,33	45,45	3,30	60	0,59
F	<i>Chaetomium sp6</i>	58,82	13,58	56,00	14,42	51,06	11,72	58,33	12,67	66,67	19,56	50,00	10,23	58,33	15,31	50,00	11,56	50,00	8,91	50,00	12,61	54,55	13,62	60	0,59
B	<i>Nocardioides sp</i>	57,14	1,40	57,45	1,65	55,56	1,46	50,00	1,82	50,00	1,75	54,55	0,86	60,00	1,78	54,55	1,23	63,64	1,60	54,55	1,16	50,00	1,35	NA	NA
F	<i>Aspergillus sp</i>	56,86	1,13	40,00	0,26	42,55	0,30	58,33	2,83	58,33	0,51	41,67	0,32	50,00	0,75	50,00	0,53	41,67	0,32	41,67	0,19	36,36	0,13	32	0,04
B	<i>Gemmatimonas sp</i>	55,10	0,40	46,81	0,27	48,89	0,36	41,67	0,25	50,00	0,27	54,55	0,40	60,00	0,31	45,45	0,18	54,55	0,26	54,55	0,44	41,67	0,44	NA	NA
F	<i>Phaeoacremonium sp</i>	54,90	3,75	56,00	3,59	51,06	2,76	50,00	1,63	66,67	6,03	50,00	3,31	50,00	3,40	50,00	2,11	50,00	1,98	50,00	2,64	54,55	4,32	NA	NA
F	<i>Emericellopsis sp</i>	54,90	2,54	52,00	3,40	53,19	3,50	41,67	3,48	66,67	2,35	50,00	1,13	50,00	2,97	58,33	5,65	58,33	3,15	50,00	3,63	45,45	1,14	NA	NA
B	<i>Pseudomonas sp</i>	53,06	1,46	65,96	7,47	60,00	4,30	58,33	2,31	50,00	3,19	72,73	3,33	40,00	3,45	63,64	5,49	63,64	8,05	72,73	1,16	41,67	0,20	28,27	0,26, 0,32
B	<i>Gaiella sp</i>	53,06	1,01	51,06	0,99	51,11	1,01	50,00	0,88	41,67	0,96	54,55	0,63	60,00	1,22	54,55	1,12	54,55	0,89	45,45	0,77	50,00	0,96	NA	NA
B	<i>Steroidobacter sp</i>	53,06	2,14	48,94	1,00	55,56	2,27	50,00	0,88	41,67	1,75	45,45	0,69	40,00	0,62	54,55	4,44	63,64	2,07	54,55	0,75	50,00	0,71	30	0,06

B	<i>Lysobacter sp</i>	53,06	1,19	34,04	0,24	40,00	0,24	41,67	0,27	33,33	0,16	72,73	3,30	40,00	0,19	45,45	0,25	36,36	0,23	45,45	0,21	33,33	0,22	NA	NA
B	<i>Dongia sp</i>	51,02	0,41	55,32	0,41	51,11	0,43	41,67	0,28	50,00	0,26	54,55	0,40	50,00	0,30	45,45	0,36	63,64	0,59	54,55	0,33	41,67	0,28	NA	NA
B	<i>Rubrobacter sp82</i>	51,02	0,88	53,19	0,73	46,67	0,71	50,00	0,95	41,67	0,60	54,55	0,75	60,00	0,79	54,55	0,83	54,55	0,75	54,55	0,72	25,00	0,36	30	0,03
B	<i>Gemmatimonas sp283</i>	51,02	0,58	48,94	0,54	51,11	0,56	50,00	0,71	41,67	0,31	45,45	0,44	60,00	0,84	54,55	0,54	54,55	0,42	54,55	0,69	41,67	0,45	NA	NA
B	<i>Pirellula sp</i>	51,02	0,20	42,55	0,20	46,67	0,24	33,33	0,10	41,67	0,10	54,55	0,17	60,00	0,19	36,36	0,13	45,45	0,16	54,55	0,36	50,00	0,22	NA	NA
B	<i>Pirellula sp476</i>	48,98	0,11	42,55	0,11	46,67	0,12	50,00	0,12	33,33	0,04	45,45	0,11	40,00	0,08	54,55	0,14	54,55	0,13	45,45	0,10	33,33	0,07	NA	NA
B	<i>Adhaeribacter sp</i>	48,98	0,22	36,17	0,20	44,44	0,20	33,33	0,19	41,67	0,23	54,55	0,24	50,00	0,29	36,36	0,14	54,55	0,25	54,55	0,22	33,33	0,12	NA	NA
F	<i>Aspergillus ochraceopetaliformis</i>	47,06	0,80	26,00	0,09	36,17	0,23	25,00	0,04	50,00	0,31	41,67	0,15	41,67	2,54	33,33	0,12	58,33	0,54	25,00	0,12	27,27	0,06	32	0,04
B	<i>Nocardioides sp75</i>	44,90	0,46	NA	NA	33,33	0,35	NA	NA	41,67	0,48	27,27	0,25	40,00	0,38	27,27	0,31	36,36	0,34	45,45	0,37	25,00	0,28	NA	NA
B	<i>Arenimonas sp</i>	44,90	0,26	46,81	0,82	42,22	0,26	50,00	0,26	41,67	0,36	54,55	1,82	40,00	0,20	27,27	0,21	54,55	0,20	54,55	0,37	33,33	0,19	37	0,09
B	<i>Gaiella sp86</i>	42,86	0,23	46,81	0,33	40,00	0,21	33,33	0,23	41,67	0,18	45,45	0,27	60,00	0,41	45,45	0,30	27,27	0,16	36,36	0,14	50,00	0,20	NA	NA
F	<i>Penicillium fuscoglaucum</i>	39,22	0,04	30,00	0,20	38,30	0,12	NA	NA	33,33	0,04	25,00	0,01	33,33	0,34	50,00	0,17	41,67	0,23	33,33	0,03	27,27	0,02	NA	NA
B	<i>Nitrospira sp</i>	38,78	0,33	38,30	0,42	37,78	0,33	NA	NA	50,00	0,62	36,36	0,27	30,00	0,27	36,36	0,44	45,45	0,24	45,45	0,30	25,00	0,24	67	0,14
B	<i>Cellvibrio sp</i>	38,78	0,41	27,66	0,07	26,67	0,25	41,67	0,24	58,33	0,60	NA	NA	30,00	0,03	27,27	0,07	27,27	0,49	36,36	0,24	NA	NA	35	0,25
F	<i>Microascus sp</i>	37,25	0,52	26,00	2,57	38,30	2,68	41,67	0,06	33,33	0,97	NA	NA	25,00	1,26	41,67	1,92	25,00	0,28	25,00	0,58	63,64	9,49	NA	NA
B	<i>Aeromicrobium sp</i>	36,73	1,15	40,43	0,37	42,22	1,19	25,00	0,27	33,33	0,25	54,55	0,67	40,00	0,33	45,45	0,40	54,55	2,17	36,36	0,29	33,33	0,22	NA	NA
B	<i>Solirubrobacter sp95</i>	36,73	0,70	38,30	0,86	40,00	0,82	25,00	0,46	41,67	0,85	45,45	1,11	40,00	0,69	36,36	0,85	45,45	0,69	45,45	0,79	33,33	0,73	NA	NA
B	<i>Sphingomonas sp</i>	36,73	0,47	38,30	2,57	40,00	0,50	25,00	0,27	41,67	8,77	45,45	0,49	40,00	0,48	36,36	0,50	45,45	0,36	36,36	0,39	41,67	0,62	42	0,07
B	<i>Phaselicystis sp354</i>	36,73	0,12	36,17	0,11	40,00	0,13	25,00	0,08	25,00	0,07	36,36	0,12	40,00	0,12	45,45	0,13	27,27	0,06	36,36	0,12	50,00	0,16	NA	NA
B	<i>Acidibacter sp564</i>	36,73	0,28	31,91	0,23	28,89	0,24	25,00	0,20	41,67	0,24	27,27	0,21	40,00	0,23	36,36	0,24	45,45	0,35	NA	NA	25,00	0,20	NA	NA

F	<i>Macrophomina phaseolina</i>	35,29	17,06	32,00	17,43	34,04	16,78	41,67	25,00	25,00	0,67	41,67	33,70	41,67	19,73	50,00	18,38	41,67	5,34	25,00	10,21	NA	NA	NA	NA
B	<i>Puía sp</i>	34,69	0,29	NA	NA	26,67	0,18	NA	NA	25,00	0,16	36,36	0,17	30,00	0,35	NA	NA	45,45	0,29	NA	NA	33,33	0,21	NA	NA
B	<i>Chryseolinea sp</i>	34,69	0,15	31,91	0,12	33,33	0,13	NA	NA	41,67	0,14	27,27	0,09	30,00	0,10	36,36	0,14	27,27	0,09	NA	NA	50,00	0,17	NA	NA
B	<i>Haliangium sp</i>	32,65	0,35	40,43	0,45	42,22	0,43	NA	NA	25,00	0,16	27,27	0,34	50,00	0,42	27,27	0,12	45,45	0,59	54,55	0,49	41,67	0,30	NA	NA
B	<i>Agromyces ramosus</i>	32,65	0,17	34,04	0,20	28,89	0,15	33,33	0,19	33,33	0,18	36,36	0,18	50,00	0,34	27,27	0,16	36,36	0,17	27,27	0,09	25,00	0,14	37	0,08
B	<i>Haliangium sp337</i>	32,65	0,48	31,91	0,19	37,78	0,25	33,33	0,08	NA	NA	27,27	0,90	30,00	0,20	45,45	0,28	27,27	0,10	45,45	0,36	33,33	0,19	NA	NA
F	<i>Penicillium sp</i>	31,37	0,18	28,00	0,35	29,79	0,28	25,00	0,22	25,00	0,06	33,33	0,19	33,33	0,49	33,33	0,14	41,67	0,67	NA	NA	27,27	0,09	NA	NA
B	<i>Bryobacter sp</i>	30,61	0,26	NA	NA	NA	NA	NA	NA	33,33	0,27	36,36	0,25	NA	NA	NA	NA	36,36	0,27	27,27	0,88	NA	NA	NA	NA
B	<i>Pontibacter sp</i>	30,61	0,13	NA	NA	26,67	0,09	NA	NA	33,33	0,12	NA	NA	30,00	0,14	NA	NA	27,27	0,07	NA	NA	41,67	0,13	NA	NA
F	<i>Alternaria alternata</i>	29,41	0,52	NA	NA	27,66	0,25	NA	NA	50,00	1,05	33,33	0,03	NA	NA	33,33	0,62	33,33	0,17	NA	NA	27,27	0,08	NA	NA
F	<i>Myrothecium roridum</i>	29,41	0,09	NA	NA	25,53	0,13	NA	NA	33,33	0,09	25,00	0,20	NA	0,49	25,00	0,27	25,00	0,10	NA	NA	36,36	0,11	NA	NA
B	<i>Fluviicola sp</i>	28,57	0,47	NA	NA	NA	NA	50,00	1,68	33,33	0,17	NA	NA	NA	NA	NA	NA	36,36	0,13	27,27	0,11	NA	NA	NA	NA
B	<i>Flavobacterium sp</i>	28,57	0,26	29,79	0,13	NA	NA	50,00	0,35	33,33	0,15	27,27	0,29	30,00	0,09	NA	NA	NA	NA	45,45	0,25	NA	NA	40,35	0,89, 1,48
B	<i>Dojkabacteria sp</i>	28,57	0,04	29,79	0,04	31,11	0,04	NA	NA	33,33	0,05	27,27	0,03	NA	NA	NA	NA	36,36	0,04	36,36	0,04	33,33	0,04	NA	NA
B	<i>Candidatus_Entotheonella_sp269</i>	28,57	0,06	29,79	0,07	28,89	0,07	33,33	0,06	33,33	0,06	NA	NA	30,00	0,09	27,27	0,08	36,36	0,08	27,27	0,05	25,00	0,05	NA	NA
B	<i>Blastococcus_sp</i>	28,57	0,34	27,66	0,35	26,67	0,29	25,00	0,26	41,67	0,55	27,27	0,36	30,00	0,43	27,27	0,27	45,45	0,45	NA	NA	25,00	0,28	57	0,13

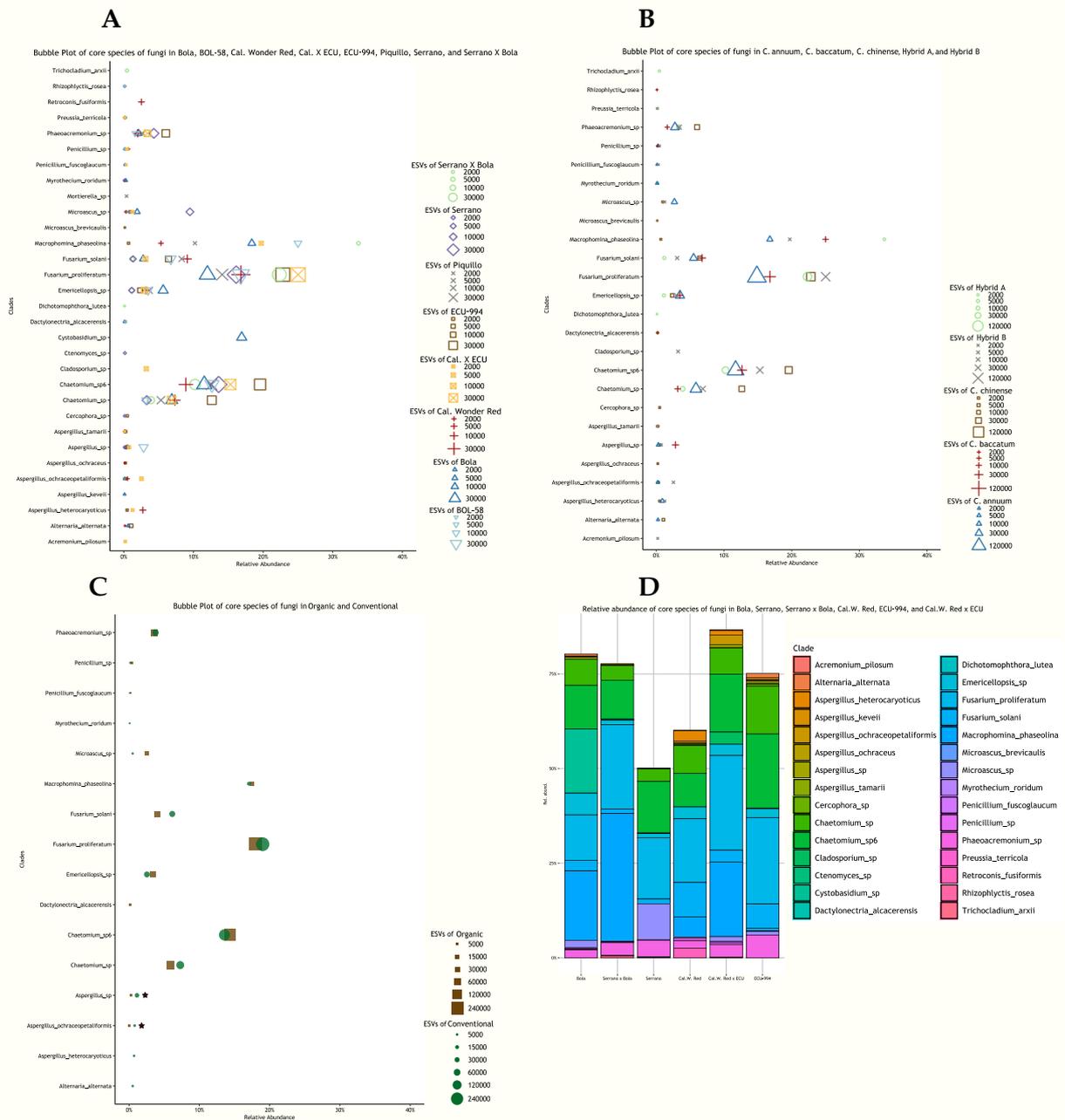


Figura 21. Especies de hongos nucleares para cada conjunto. A) Gráfico de “burbujas” con la abundancia relativa de los taxa principales encontrados en el conjunto de muestras de Convencional y Orgánico, con tamaño de token definido por abundancia (ESV). Los valores de umbral fueron ESV mínimo de 27 y abundancia relativa mínima de 0,01%; B) Gráfico de “burbujas” con la abundancia relativa de los taxa principales encontrados en el conjunto de muestras de especies de *Capsicum*, con tamaño de token definido por abundancia (ESV), ESV mín. de 200 y abund. rel. mín. de 0,1%; C) Gráfico de “burbujas” con la abundancia relativa de los taxa principales encontrados en el conjunto de muestras de las diferentes accesiones, con tamaño de token definido por abundancia (ESV), ESV mín. de 200 y abund. rel. mín. de 0,1%. La presencia del símbolo ★ implica que tuvieron diferencias significativas al <0,5%; D) Gráfico de barras con abundancia relativa de taxones nucleares encontrados en accesiones parentales y sus híbridos, abund. rel. mín. de 0,1%.

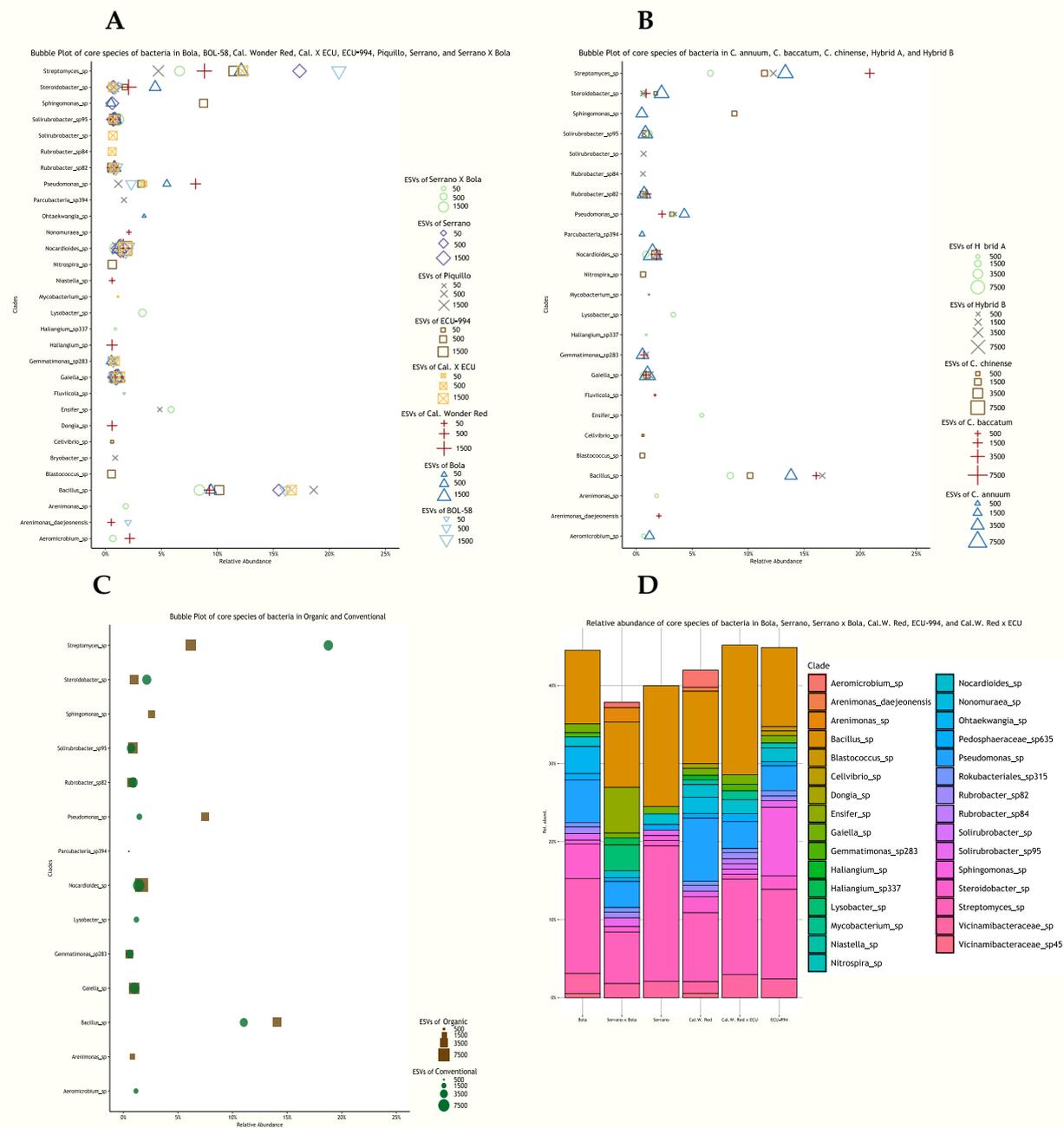


Figura 22. Especies de bacterias nucleares para cada conjunto. A) Gráfico de “burbujas” con la abundancia relativa de los taxa principales encontrados en el conjunto de muestras de Convencional y Orgánico, con tamaño de token definido por abundancia (ESV). Los valores de umbral fueron ESV mínimo de 100 y abundancia relativa mínima de 0,5%; B) Gráfico de “burbujas” con la abundancia relativa de los taxa principales encontrados en el conjunto de muestras de especies de *Capsicum*, con tamaño de token definido por abundancia (ESV), ESV mín. de 100 y abund. rel. mín. de 0,5%; C) Gráfico de “burbujas” con la abundancia relativa de los taxa principales encontrados en el conjunto de muestras de las diferentes accesiones, con tamaño de token definido por abundancia (ESV), ESV mín. de 100 y abund. rel. mín. de 0,1%; D) Gráfico de barras con abundancia relativa de taxones nucleares encontrados en accesiones parentales y sus híbridos, abund. rel. mín. de 0,5%.

## 5.4. Discusión

### 5.4.1. Suelo, rizosfera y raíz: tres ecosistemas relacionados pero distintos

Los resultados mostraron diferencias significativas en la diversidad entre suelos control, rizosferas y raíces. Las diferencias entre el suelo control y la rizosfera indican que la raíz está incentivando el crecimiento de ciertos hongos y bacterias debido a su interacción con el suelo a través de los exudados. Este efecto se ha constatado en muchas ocasiones (Mao *et al.*, 2014, Zhalnina *et al.*, 2018). Por otro lado, la raíz ejerce de barrera que sólo deja adentrarse a unas pocas especies. Aún así se pudieron identificar 103 bacterias endófitas y 14 hongos endófitos.

Como organismos exclusivos de las raíces encontramos hongos micorrícicos (*Glomeraceae*: *Dominikia iranica* y *Glomus aggregatum*); el entomopatógeno *Simplicillium sp.* (*Cordycipitaceae*), y diversos patógenos como *Macrophomina phaseolina* (*Botryosphaeriaceae*), *Podosphaera xanthii*, *Gibberella fujikuroi*. Además de micoplasmas y otras bacterias imposibles de cultivar. En asociación exclusiva con las raíces, también encontramos siete especies de bacterias fijadoras de nitrógeno de *Rhizobiales*. Algunas son especies simbióticas bien conocidas, como *Mesorhizobium sp.*, pero también encontramos dos especies de *Beijerinckiaceae* (*Roseiarcus sp.* y una especie no identificada), un fotótropo bacteriano, *Rhodomicrobium sp.*, y tres especies de *Rhizobiales* no identificadas. Otras especies que se encontraron exclusivamente en las raíces fueron dos especies de *Geobacter* (*Geobacteraceae*), que tienen aplicaciones potenciales en biorremediación, y dos especies de *Geothrix* (*Holophagaceae*), bacterias anaerobias con capacidad quelante (Coates *et al.*, 1999). Estos endófitos que no se encontraron en el suelo podrían ser transmitidos verticalmente a través de las semillas, o encontrarse en tan pequeña cantidad en el suelo que no fueran detectables. Otra característica es que estos endófitos se encontraron sólo en algunas muestras, siendo los únicos persistentes entre todas las muestras de raíces *Macrophomina phaseolina* y *Simplicillium sp.*

Como hongos presentes tanto en el suelo como en las raíces encontramos gran cantidad de géneros con actividad patogénica pero también con actividad supresora como *Erysiphaceae* no identificados, *Dactylonectria alcacerensis*, mientras que otros *Nectriaceae* presentes tanto en las raíces como en los suelos fueron *Fusarium proliferatum*, *Fusarium solani*, *Gibberella sp*, *Pleiocarpon sp*, *Volutella ciliata* y un *Nectriaceae* no identificado; otros fitopatógenos potenciales son *Cladosporium aciculare* y *C. rhusicola* identificados exclusivamente en raíces y *C. aggregatocicatricatum*, *C. cycadicola*, *C. puyae* y *Cladosporium sp* en raíces y suelo (*Cladosporiaceae*); también identificamos en las raíces la presencia de un moho psicrófilo, *Mrakia sp*.

Encontramos varias especies de *Aspergillaceae*, que son endófitos comunes de las plantas, a menudo produciendo compuestos antibacterianos, inhibidores de replicación viral, entre otros compuestos bioactivos, tanto en muestras de suelo como de raíces (Song *et al.*, 2022): *Aspergillus heterocaryoticus*, *A. keveii*, *A. ochraceopetaliformis*, *A. ochraceus*, *A. oerlinghausenensis*, *A. persii*, *Aspergillus sp.*, *Penicillium brocae*, *P. fuscoglaucum*, *Penicillium sp.* y *Talaromyces rufus*. Como se esperaba, pudimos identificar muchas especies saprofitas: *Conocybe sp.* (*Bolbitiaceae*); *Rhizoctonia sp.*, *Thanatephorus cucumeris* y un *Ceratobasidiaceae* no identificado (*Ceratobasidiaceae*); *Chaetomium sp.*, *Retroconis fusiformis* y un *Chaetomiaceae* no identificado; *Microascus brevicaulis*, *Microascus sp.* y *Petriella musispora* (*Microascaceae*); *Mortierella sp.* y un *Mortierellaceae* no identificado; y un *Lophiostomataceae* no identificado. Detectamos posibles micoparásitos: *Filobasidium magnum* (*Filobasidiaceae*), *Cystobasidium sp* (*Cystobasidiaceae*) y un *Rozellomycota* no identificado. Además de los fitopatógenos mencionados anteriormente, también encontramos otros posibles patógenos fúngicos de plantas: *Podosphaera xanthii* y un *Erysiphaceae* no identificado; *Phaeoacremonium sp.* (*Togniniaceae*), *Nigrospora oryzae* (*Trichosphaeriaceae*). También encontramos el moho xerofílico común *Wallemia sp* (*Wallemiaceae*).

Presente tanto en suelos como en raíces, también encontramos un *Ensifer sp.*

Un grupo de bacterias involucradas en los ciclos globales del carbono y el nitrógeno es el grupo de *Pirellula spp.* (Fraser, 2004). Encontramos en raíces y suelo dos *Pirellula spp.* diferentes y cinco en suelo. En general, se encontraron 22 especies halotolerantes de *Pirellulaceae*. Encontramos una especie de *Methyloligellaceae* (*Rhizobiales*) en bacterias que habitan tanto en raíces como en suelos. Estas bacterias son metanótrofos conocidos que juegan un papel en la oxidación del metano (Knief, 2015).

Es importante mencionar que el 21,5% de los hongos (35 de 163 ESVs: 2 exclusivos de la raíz, 11 presentes tanto en la raíz como en los suelos, y 22 exclusivos de los suelos) y el 49,4% de las bacterias (592 de 1199 ESVs: 38 exclusivos de la raíz, 67 presentes tanto en la raíz como en los suelos, y 487 exclusivos de los suelos) no fueron identificados por debajo del nivel de la familia, lo que sugiere la necesidad de invertir más en la investigación de la biodiversidad microbiana.

#### 5.4.2. Diferencias por manejo, especie y taxa nucleares de pimiento en el Marjal dels moros

Aunque los índices de diversidad mostraron diferencias en cuanto a los manejos de las dos parcelas fue difícil definir en qué consistían dichas diferencias. También se observaron diferencias entre las especies y los genotipos, pero serían necesarias más réplicas para poder determinar adecuadamente si dichas diferencias son significativas. Sin embargo, los datos obtenidos sí pueden dar lugar a la definición de unos taxa nucleares de *Capsicum* para el sitio del ensayo. Así las rizosferas de *Capsicum* en el presente experimento se caracterizaron por tener una proporción mayor de bacterias que de hongos. Y proporciones equilibradas de microorganismos patógenos y supresores de enfermedades. Este balance se da tanto en hongos como en bacterias.

Dentro de los hongos que encontramos en la lista nuclear fueron los pertenecientes a la familia *Nectriaceae* como *Fusarium*. Las especies del género *Fusarium* suelen actuar como patógenos siendo el más importante *F. solani* para las plantas de pimiento (Lau

*et al.*, 2020). En la lista nuclear también se identificó a *Fusarium proliferatum*, quien se considera patógeno para cebolla y ajo (Stankovic *et al.*, 2007). Especies del género *Chaetomium* se utilizan como antagonistas y para el control de otros patógenos de plantas (Shanthiyaa *et al.*, 2013; Ashwini, 2019). Curiosamente el género *Emericellopsis* fue uno de los representados. Este género pertenece a un clado marino con tolerancia a la sal, las parcelas muestreadas se encuentran en la *Marjal dels moros* una zona húmeda cercana al mar, por lo tanto no es de extrañar su presencia. *Phaeoacremonium* es un género de patógenos vasculares (Mostert *et al.*, 2006).

En el caso de las bacterias, hubo más sobre representación de bacterias potencialmente positivas para la planta que patógenas. Encontramos como más abundantes a *Streptomyces*, que son un género importante de bacterias del suelo del filo de las actinobacterias. *Streptomyces* tiene varias especies patógenas como *S. scabies* que causa la sarna común en varios cultivos, particularmente en la patata. Sin embargo, también se han descrito *Streptomyces* con acción positiva sobre el desarrollo de las plantas. El segundo taxón bacteriano que caracterizaría el microbioma de nuestro ensayo sería el género *Bacillus*. Este género se utiliza en muchos casos para el control biológico de plagas y muy frecuentemente como promotores del crecimiento de las plantas (Shafi *et al.*, 2017). *Steroidobacter* y *Lysobacter* son bacterias degradadoras de compuestos orgánicos complejos que usan polímeros derivados de plantas y devuelven hormonas vegetales que brindan protección contra patógenos a sus huéspedes. Los géneros bacterianos *Actinospica* y *Nocardioides* podrían tener capacidad de biocontrol.

## 5.5. Conclusiones

El análisis del microbioma nos permite tener una comprensión mucho más amplia de las interacciones entre la planta y el bioma subterráneo. El presente estudio muestra el aumento de ciertos microorganismos en las inmediaciones de las raíces y además la especificidad de algunas interacciones dependiendo del genotipo. Los microbiomas analizados mostraron una complejidad amplia y una representación alta

de patógenos, pero también de supresores de los mismos y microorganismos promotores del crecimiento de las plantas. El hecho de encontrar muchos microorganismos no identificados nos muestra el gran desconocimiento que tenemos de los suelos y la necesidad de ahondar en este tipo de estudios con técnicas de identificación mediante secuenciación a mayor profundidad y amplitud en el metagenoma.

## 5.6. Referencias bibliográficas

Abarenkov, Kessy; Zirk, Allan; Piirmann, Timo; Pöhönen, Raivo; Ivanov, Filipp; Nilsson, R. Henrik; Kõljalg, Urmas (2021): UNITE QIIME release for eukaryotes 2. Version 10.05.2021. UNITE Community. <https://doi.org/10.15156/BIO/1264861>

Allard, S. M., Ottesen, A. R., & Micallef, S. A. (2020). Rain induces temporary shifts in epiphytic bacterial communities of cucumber and tomato fruit. *Scientific Reports*, 10(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58671-7>

Asaff-Torres, A., Armendáriz-Ruiz, M., Kirchmayr, M., Rodríguez-Heredia, R., Orozco, M., Mateos-Díaz, J. C., Figueroa-Yáñez, L., Baqueiro-Peña, I., & Verdín, J. (2017). Rhizospheric Microbiome Profiling of *Capsicum annuum* L. Cultivated in Amended Soils by 16S and Internal Transcribed Spacer 2 rRNA Amplicon Metagenome Sequencing. *Genome Announcements*, 5(30). <https://doi.org/10.1128/genomea.00626-17>

Bengtsson-Palme, J., Ryberg, M., Hartmann, M., Branco, S., Wang, Z., Godhe, A., et al. 2013. Improved software detection and extraction of ITS1 and ITS2 from ribosomal ITS sequences of fungi and other eukaryotes for analysis of environmental sequencing data. *Methods Ecol Evol* 4, 914-919. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12073>

Bolyen, E., Rideout, J. R., Dillon, M. R., Bokulich, N. A., Abnet, C. C., Al-Ghalith, G. A., et al. 2019. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nature Biotechnology* 37, 852–857. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0209-9>

CALBIOCHEM-Merck. (2003). Buffers. A guide for the preparation and use of buffers in biological systems (Revisado en: [http://wolfson.huji.ac.il/purification/PDF/Buffers/Calbiochem\\_Buffers\\_Booklet.pdf](http://wolfson.huji.ac.il/purification/PDF/Buffers/Calbiochem_Buffers_Booklet.pdf))

Coates, J. D., Ellis, D., Gaw, C., Lovely, D. 1999. *Geothrix fermentans* gen. nov., sp. nov., A novel Fe(III)-reducing bacterium from a hydrocarbon-contaminated aquifer. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 49 (4): 1615–1622

Cook, R. J., Thomashow, L. S., Weller, D. M., Fujimoto, D., Mazzola, M., Bangera, G., & Kim, D. S. (1995). Molecular mechanisms of defense by rhizobacteria against root disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(10), 4197–4201. <https://doi.org/10.1073/pnas.92.10.4197>

FAO e ITPS. (2015). Status of the World's Soil Resources (SWSR) – Main Report. Food and Agriculture Organization of the United Nations and Intergovernmental Technical Panel on Soils, Rome, Italy

Fraser, C. M. 2004. All things great and small. *Trends in Microbiology* 12 (1) 7-8.

Gilbert, S. F., Rosenberg, E. y Zilber-Rosenberg, I. (2018). "The Holobiont With Its Hologenome Is A Level Of Selection In Evolution". *Landscapes Of Collectivity In The Life Sciences*. 305-324. <https://works.swarthmore.edu/fac-biology/549>

Hammer, Ø., Harper, A. A. T. & Ryan, P. D. 2001. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* 4, 1-9.

Holm, S. 1974. A Simple Sequentially Rejective Multiple Test Procedure. *Scand J Statist* 6, 65-70.

Jo, Y., Back, C.-G., Kim, K.-H., Chu, H., Lee, J. H., Moh, S. H., & Cho, W. K. (2021). Comparative Study of Metagenomics and Metatranscriptomics to Reveal Microbiomes in Overwintering Pepper Fruits. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(12), 6202. <https://doi.org/10.3390/ijms22126202>

Jiménez-Pérez, M., Morales-Manzo, I. I., Fita, A., & Rodríguez-Burruezo, A. (2022). Mitigation of drought stress in Solanaceae vegetables through symbiosis with plant growth – promoting bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi. A review. *AgroLife Scientific Journal*, 11(1), 86–98. <https://doi.org/10.17930/agl2022110>

Kim, J. E., Lillehoj, H. S., Hong, Y. H., Kim, G. B., Lee, S. H., Lillehoj, E. P., & Bravo, D. M. (2015). Dietary Capsicum and Curcuma longa oleoresins increase intestinal microbiome and necrotic enteritis in three commercial broiler breeds. *Research in Veterinary Science*, 102, 150–158. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2015.07.022>

Knief, C. 2015. Diversity and Habitat Preferences of Cultivated and Uncultivated Aerobic Methanotrophic Bacteria Evaluated Based on *pmoA* as Molecular Marker. *Front Microbiol.* 15;6 1346. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01346>

Mahalak, K. K., Bobokalonov, J., Firman, J., Williams, R., Evans, B., Fanelli, B., Soares, J. W., Kobori, M., & Liu, L. (2022). Analysis of the Ability of Capsaicin to Modulate the Human Gut Microbiota In Vitro. *Nutrients*, 14(6), 1283. <https://doi.org/10.3390/nu14061283>

MAPA. 1994. Métodos Oficiales de Análisis Vol. II; Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación: Madrid, Spain.

Mao, Y., Li, X., Smyth, E. M., Yannarell, A. C., & Mackie, R. I. (2014). Enrichment of specific bacterial and eukaryotic microbes in the rhizosphere of switchgrass (*Panicum virgatum* L.) through root exudates. *Environmental Microbiology Reports*, 6(3), 293–306. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12152>

Menzies, J. D. (1959). Occurrence and transfer of a biological factor in soil that suppresses potato scab. *Phytopathology* 49:648–52

Metsalu, T. & Vilo, J. 2015. Clustvis: A web tool for visualizing clustering of multivariate data using Principal Component Analysis and heatmap. *Nucleic Acids Res.* 43(W1), W566–W570. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv468>

Morales-Manzo, I. I., Ribes-Moya, A. M., Pallotti, C. P., Jiménez-Belenguer, A., Pérez, C., Dolores-Raigón, M., Rodríguez-Barruezo, A., Fita, A. (2023). Root-soil interactions for pepper accessions grown under organic and conventional farming. Enviado a *Plants-MDPI*, 6 marzo 2023.

Morris, E. K., Caruso, T., Buscot, F., Fischer, M., Hancock, C., Maier, T. S., et al. 2014. Choosing and using diversity indices: insights for ecological applications from the German Biodiversity Exploratories. *Ecol Evol* 4, 3514-24. <https://doi.org/10.1002/ece3.1155>

Raigón, M. D., Rodríguez-Barruezo, A. & Prohens, J. 2010. Effects of Organic and Conventional Cultivation Methods on Composition of Eggplant Fruits. *J. Agric. Food Chem.* 58, 6833–6840. <https://doi.org/10.1021/jf904438n>

Robeson II, M. S., O'Rourke, D. R., Kaehler, B. D., Ziemski, M., Dillon, M. R., Foster, J. T., Bokulich, N. A. 2020. RESCRIPt: Reproducible sequence taxonomy reference database management. *PloS Comp Biol* 17: e1009581. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1009581>

Rosca, A. E., Iesanu, M. I., Zahiu, C. D. M., Voiculescu, S. E., Paslaru, A. C., & Zagrean, A.-M. (2020). Capsaicin and Gut Microbiota in Health and Disease. *Molecules*, 25(23), 5681. <https://doi.org/10.3390/molecules25235681>

Ruiz-González, M. X. (2023). "Figure #. Pie charts of main fungal and bacterial families found in blank, rhizospheric and root samples.", sin publicar.

Shafi, J., Tian, H., & Ji, M. (2017). *Bacillus* species as versatile weapons for plant pathogens: a review. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 31(3), 446–459. <https://doi.org/10.1080/13102818.2017.1286950>

Song, F.; Dong, Y.; Wei, S.; Zhang, X.; Zhang, K.; Xu, X. New Antibacterial secondary Metabolites from a Marine-Derived *Talaromyces* sp. Strain BTBU20213036. *Antibiotics* 2022, 11, 222. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11020222>

Vilanova, S., Alonso, D., Gramazio, P., Plazas, M., García-Forteza, E., Ferrante, P., Schmidt, M., Díez, M. J., Usadel, B., Giuliano, G. & Prohens, J. 2020. SILEX: a fast and inexpensive high-quality DNA extraction method suitable for multiple sequencing platforms and recalcitrant plant species. *Plant Methods* 16, 1-11. <https://doi.org/10.1186/s13007-020-00652-y>

Weller, D. M., Raaijmakers, J. M., Gardener, B. B. M., & Thomashow, L. S. (2002). MICROBIAL POPULATIONS RESPONSIBLE FOR SPECIFIC SOIL SUPPRESSIVENESS TO PLANT PATHOGENS. *Annual Review of Phytopathology*, 40(1), 309–348. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.40.030402.110010>

Zhalnina, K., Louie, K. B., Hao, Z., Mansoori, N., da Rocha, U. N., Shi, S., Cho, H., Karaoz, U., Loqué, D., Bowen, B. P., Firestone, M. K., Northen, T. R., & Brodie, E. L. (2018). Dynamic root exudate chemistry and microbial substrate preferences drive patterns in rhizosphere microbial community assembly. *Nature Microbiology*, 3(4), 470–480. <https://doi.org/10.1038/s41564-018-0129-3>

## 6. Discusión general.



Respecto al primer capítulo, al evaluar la resistencia al oídio de varias accesiones de *Capsicum*, las diferencias en la arquitectura, tamaño, número de hojas y vigor entre las accesiones se identificó como una dificultad para la comparación de su nivel de tolerancia. Además, se ha reportado que las evaluaciones dicotómicas para presencia y ausencia de síntomas son inefficientes para definir adecuadamente la resistencia a *L. taurica* (Lin *et al.*, 2019). Por ello, el uso de un índice compuesto en nuestra investigación mitigó estos efectos y permitió una comparación más justa. Las respuestas a la infección por oídio dependieron en gran medida del momento en que las lecturas fueran realizadas (DDI). Algunas accesiones mostraron una recuperación notable después de un período sin presión de inoculación, mientras que otras mostraron síntomas y nivel de tolerancia similares en ambas evaluaciones. La resistencia al oídio es compleja y puede ser efectiva de forma diferencial en cada etapa fenológica de la edad de la planta (de Souza y Café-Filho, 2003). Las plantas tienen una respuesta común a la infección por oídio, que es el desprendimiento de hojas, un mecanismo común para lidiar con la infección que permite a la planta sobrevivir al ataque y recuperarse.

Los genes recesivos *CaMlo1* y *CaMlo2*, que están directamente involucrados en la muerte celular y la formación de especies reactivas de oxígeno, evitan el establecimiento de apresorios y la penetración de las hifas (Kim y Hwang, 2012). Por otro lado, la respuesta clásica de los genes R, como el gen *PMR1*, detecta efectores del patógeno e inicia la respuesta inmunitaria (Jo *et al.*, 2017). A pesar de que han sido identificados genes individuales de resistencia, como los mencionados, en general la resistencia al oídio se le considera de una naturaleza cuantitativa, de la cual sólo se han dilucidado algunos QTL (Lefebvre *et al.*, 2003, Eggink *et al.*, 2016, Gabor *et al.*, 2017). Los resultados del estudio mostraron un continuo de respuesta a la infección por *L. taurica* en las diferentes accesiones. Las accesiones de *C. annuum* var. *glabriusculum*, también conocido como chiltepines, fueron las mejores fuentes de resistencia identificadas. Estos resultados y su compatibilidad para cruzamientos con

*C. annuum*, ofrecen la oportunidad de introgresiones fáciles de genes de interés por hibridación sexual. La morfología de las hojas con una mayor densidad de pelos en Ag-01 que en otras accesiones probadas puede sugerir la presencia de mecanismos de defensa física inexplorados.

Respecto al segundo capítulo, sobre la interacción entre raíces y el suelo rizosférico, el estudio realizado por de Brogniez *et al.* (2015) mostró que el estado del suelo está condicionado en buena medida por el sistema de cultivo. Los suelos evaluados en este experimento eran similares en cuanto a condiciones climáticas y propiedades físicas, pero diferían en el manejo del cultivo. La aplicación de fertilizantes químicos y pesticidas en la agricultura convencional y solo enmiendas de materia orgánica y productos autorizados de agricultura orgánica en el caso del cultivo orgánico. Los resultados mostraron diferencias en los caracteres del suelo estudiados que fueron capaces de diferenciar entre ambos suelos desde el principio del experimento. En primer lugar, la tasa de respiración inducida medida mediante el método colorimétrico puede ser un indicador del nivel de biomasa microbiana y diversidad de ciertos suelos. En segundo lugar, otros indicadores importantes de la calidad del suelo son las enzimas del suelo, tales como la actividad deshidrogenasa, la  $\beta$ -glucosidasa, la fosfatasa alcalina y ácida, y la ureasa. En tercer lugar, los recuentos microbianos y la dinámica del ciclo del nitrógeno también varían según el sistema de cultivo.

Se encontró que la respiración microbiana y la utilización de carbono no son estáticas, sino que varían a lo largo del año, probablemente debido a las variaciones estacionales en las características de los ecosistemas estudiados (Babur *et al.*, 2022). Además, la respuesta de las comunidades microbianas a diferentes temperaturas podría utilizarse para predecir los cambios inducidos por el clima en los flujos de carbono (Bradford *et al.*, 2019). En general, se ha encontrado que un mayor contenido de materia orgánica se correlaciona con una mayor actividad enzimática y una mayor diversidad microbiana (Mangalassery *et al.*, 2015). El manejo del suelo es un impulsor de la

actividad enzimática del suelo, con una actividad más alta de la  $\beta$ -glucosidasa en el suelo orgánico debido a la mayor presencia de carbono orgánico en el suelo consecuencia de la fertilización con estiércol (*ibid.*). En el proceso de nitrificación, los microorganismos convierten el amoníaco en nitrato para obtener energía. La mineralización y la nitrificación fueron mayores en el sistema orgánico que en el convencional, lo que indica una mayor capacidad para recircular nitrógeno y, por tanto, una mayor fertilidad del suelo.

Durante el crecimiento de la planta, los desechos de la rizosfera, los exudados de las raíces y las células fronterizas de las raíces dan forma a las comunidades microbianas, el pH y otros factores en la rizosfera, permitiendo que las plantas absorban una variedad más amplia de nutrientes para el crecimiento e inhibiendo posibles patógenos (Sánchez-Cañizares *et al.*, 2017, Vives-Peris *et al.*, 2020). En este experimento, se observó que las accesiones de *Piquillo*, *Serrano* y *Bola*, tienen la capacidad de alterar la comunidad y la función microbiana de la rizosfera. Sin embargo, las correlaciones entre los caracteres morfológicos de la raíz y la rizosfera fueron significativas sólo para algunos parámetros. Por lo tanto, se sugiere que la exudación de raíces fue más importante que la morfología de las raíces para crear diferencias entre las rizosferas de las accesiones.

El estudio de las interacciones entre las plantas y el suelo son complejas y multifactoriales. Factores como la presencia de una vegetación profusa, una alta colonización de raíces y la ausencia de labranza han sido correlacionados con una mayor actividad enzimática del suelo. La capacidad de movilización de la accesión *Piquillo* afecta al ciclo del nitrógeno y parece estar correlacionada con un aumento en la masa aérea de la planta y en el peso de la fruta. La exudación radicular, junto con la morfología radicular y las simbiosis micorrícicas, se ha descrito como una forma de dar forma a las estrategias de adquisición de recursos subterráneos de manera dependiente de la especie.

En resumen, el estudio destacó la complejidad y la dinámica de los suelos evaluados y cómo la elección del sistema de cultivo influye en el estado del suelo. El comportamiento de la rizosfera está influenciado por la interacción de las plantas con su entorno circundante, de ahí que los genotipos de las plantas tengan un papel importante en la modulación de la comunidad y la función microbiana de la rizosfera (Berendsen *et al.*, 2012), lo que finalmente afecta el estado nutricional real de la planta. Aunque la correlación entre la morfología de la raíz y la rizosfera fue limitada, se espera que futuros análisis puedan aclarar si los exudados radiculares están correlacionados con una determinada morfología de la raíz o si son totalmente independientes.

Respecto al tercer capítulo, el análisis de la diversidad de comunidades microbianas en diferentes ecosistemas del suelo, como el suelo control, la rizosfera y las raíces de las plantas de diferentes accesiones de pimiento mostró que hay diferencias significativas en la diversidad entre estos ecosistemas. La raíz, por ejemplo, ejerce un efecto en la diversidad microbiana del suelo debido a su interacción con el suelo a través de los exudados, lo que incentiva el crecimiento de ciertos hongos y bacterias (Mao *et al.*, 2014, Zhahnina *et al.*, 2018). Se identificaron varias especies de endófitos exclusivos de las raíces, como hongos micorrícicos, bacterias fijadoras de nitrógeno y otros patógenos y saprófitos. También se encontraron diferentes géneros de hongos tanto en el suelo como en las raíces, algunos con actividad patogénica y otros con actividad supresora. Además, se detectaron posibles micoparásitos y patógenos fúngicos de plantas, así como bacterias involucradas en los ciclos globales del carbono y el nitrógeno (Fraser, 2004).

Aunque se detectaron diferencias en la diversidad de los suelos debido a diferentes manejos y especies, se necesitarían más réplicas para determinar su significado. Sin embargo, los datos obtenidos permitieron identificar los taxa nucleares de diferentes especies de *Capsicum* presentes en el sitio del ensayo. Los resultados indicaron que las rizosferas de *Capsicum* se caracterizaron por tener una mayor proporción de bacterias

que de hongos y una equilibrada presencia de microorganismos patógenos y supresores de enfermedades en ambos grupos. Entre los hongos más abundantes encontramos del género *Fusarium*, que suelen actuar como patógenos en las plantas de pimiento, y bacterias beneficiosas como el género *Bacillus*, utilizado para el control biológico de plagas y como promotor del crecimiento de las plantas (Shafi *et al.*, 2017). Además, se identificaron otros taxa nucleares con potencial para degradar compuestos orgánicos complejos y actuar como biocontroladores de patógenos. En general, los resultados sugieren la importancia de comprender las interacciones entre los genotipos de las plantas y las comunidades microbianas del suelo. Hubo un porcentaje significativo de hongos y bacterias no fueron identificados por debajo del nivel de la familia, lo que indica la necesidad de invertir más en la investigación de la biodiversidad microbiana, destacando la importancia de comprender a profundidad la biodiversidad del suelo y sus diferentes ecosistemas para la salud del suelo y el éxito de la agricultura como una práctica sustentable a largo plazo.

## 7. Conclusiones generales.



La resistencia al oídio en plantas está controlada por varios genes y su nivel varía según la edad de la planta y el fondo genético. En este estudio se encontró:

- Una alta tolerancia al oídio dentro del taxón *C. annuum* var. *glabriusculum*, lo que puede facilitar la introducción de genes de resistencia en variedades comerciales de pimientos.
- La morfología de las hojas con una mayor densidad de pelos en estas accesiones sugiere la presencia de mecanismos de defensa física inexplorados, lo que indica que pueden ser una fuente prometedora de variación.

La interacción entre los genotipos de pimiento y el suelo permite identificar las combinaciones más adecuadas para la salud del suelo. Así, hemos identificado:

- El sistema orgánico presentó actividades enzimáticas, conteos microbianos y metabolismo de nitrógeno más altos en la rizosfera y en el suelo control que el suelo convencional.
- El sistema convencional tuvo una respiración inducida más alta y emisiones de gases derivados de nitrógeno más altos que el suelo orgánico.
- Algunos genotipos modificaron las propiedades de la rizosfera de manera muy dependiente del genotipo, probablemente debido a sus exudados, que necesitan ser analizados más detenidamente.
- La morfología de la raíz tuvo bajas correlaciones con las propiedades de la rizosfera.

En el estudio del microbioma del pimiento cultivado en el *Marjal dels moros*, para entender mejor las interacciones entre la planta y el bioma subterráneo hemos identificado:

- El aumento de ciertos microorganismos en la zona de las raíces y la especificidad de algunas interacciones según el genotipo de la planta.
- El microbioma del suelo es muy complejo y contiene microorganismos tanto patógenos como supresores de enfermedades y que promueven el crecimiento de las plantas.
- Sin embargo, el hecho de encontrar muchos microorganismos no identificados indica que todavía existe un gran desconocimiento sobre los suelos y se necesitan técnicas más avanzadas de identificación para profundizar en este tipo de estudios.

## 8. Referencias bibliográficas generales.

Abu-Irmaileh, B. (2004). Soil solarization. En R. Labrada (Ed.), *Weed management for developing countries* (Vol. 120). Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Aguilera, E., Díaz-Gaona, C., García-Laureano, R., Reyes-Palomo, C., Guzmán, G. I., Ortolani, L., Sánchez-Rodríguez, M., & Rodríguez-Estévez, V. (2020). Agroecology for adaptation to climate change and resource depletion in the Mediterranean region. A review. *Agricultural Systems*, 181, 102809. <https://doi.org/10.1016/j.agsy.2020.102809>

Ashwini, C. (2019). A review on *Chaetomium globosum* is versatile weapons for various plant pathogens. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(2), 946-949.

Babur, E., Dindaroğlu, T., Riaz, M., Uslu, O. S. (2022). Seasonal variations in litter layers' characteristics control microbial respiration and microbial carbon utilization under mature pine, cedar, and beech forest stands in the Eastern Mediterranean Karstic Ecosystems. *Microbial ecology*, 84(1), 153-167. <https://doi.org/10.1007/s00248-021-01842-4>

Baker, K. F. y Cook, R.J. (1974). *Biological control of plant pathogens*. San Francisco: W. H. Freeman

Barboza, G. E., García, C. C., Bianchetti, L. de B., Romero, M. V., & Scaldaferrro, M. (2022). Monograph of wild and cultivated chili peppers (*Capsicum* L., Solanaceae). *PhytoKeys*, 200, 1-423. <https://doi.org/10.3897/phytokeys.200.71667>

Berendsen, R. L., Pieterse, C. M. J., Bakker, P. A. H. M. (2012). The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends in Plant Science*, 17(8). <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.04.001>

Berihu, M., Somera, T. S., Malik, A., Medina, S., Piombo, E., Tal, O., Cohen, M., Ginatt, A., Ofek-Lalzar, M., Doron-Faigenboim, A., Mazzola, M., & Freilich, S. (2023). A framework for the targeted recruitment of crop-beneficial soil taxa based on network analysis of metagenomics data. *Microbiome*, 11(1). <https://doi.org/10.1186/s40168-022-01438-1>

Blat, S. F., Costa, C. P. da, Vencovsky, R., & Sala, F. C. (2005). Reação de acessos de pimentão e pimentas ao oídio (*Oidiopsis taurica*). *Horticultura Brasileira*, 23(1), 72-75. <https://doi.org/10.1590/s0102-05362005000100015>

Bradford, M. A., McCulley, R. L., Crowther, T., Oldfield, E. E., Wood, S. A., Fierer, N. (2019). Cross-biome patterns in soil microbial respiration predictable from evolutionary

theory on thermal adaptation. *Nature Ecology & Evolution*, 3(2), 223-231. <https://doi.org/10.1038/s41559-018-0771-4>

Büschges, R., Hollricher, K., Panstruga, R., Simons, G., Wolter, M., Frijters, A., van Daelen, R., van der Lee, T., Diergaarde, P., Groenendijk, J., Töpsch, S., Vos, P., Salamini, F., y Schulze-Lefert, P. (1997). The Barley Mlo Gene: A Novel Control Element of Plant Pathogen Resistance. *Cell*, 88(5), 695–705. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)81912-1](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)81912-1)

Challinor, A. J., Watson, J., Lobell, D. B., Howden, S. M., Smith, D. R., & Chhetri, N. (2014). A meta-analysis of crop yield under climate change and adaptation. *Nature Climate Change*, 4(4), 287–291. <https://doi.org/10.1038/nclimate2153>

Chile "Medusa". Atilin, CC BY 3.0, via Wikimedia Commons, <https://creativecommons.org/licenses/by/3.0>

Chile "Perla negra". PeterWesco, CC BY-SA 3.0, via Wikimedia Commons <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0>

Cook, R. J., Thomashow, L. S., Weller, D. M., Fujimoto, D., Mazzola, M., Bangera, G., & Kim, D. S. (1995). Molecular mechanisms of defense by rhizobacteria against root disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(10), 4197–4201. <https://doi.org/10.1073/pnas.92.10.4197>

Cookson, W. R., Murphy, D. V., & Roper, M. M. (2008). Characterizing the relationships between soil organic matter components and microbial function and composition along a tillage disturbance gradient. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(3), 763–777. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.10.011>

de Brogniez, D., Ballabio, C., Stevens, A., Jones, R. J. A., Montanarella, L., van Wesemael, B. (2015). A map of the topsoil organic carbon content of Europe generated by a generalized additive model. *European Journal of Soil Science*, 66(1), 121–134. <https://doi.org/10.1111/ejss.12193>

de Souza, V. L., Café-Filho, A. C. (2003). Resistance to *Leveillula taurica* in the genus *Capsicum*. *Plant pathology* 52:613-619. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3059.2003.00920.x>

Eggink, P. M., D'hoop, B. B., Brouwer, M., Deniau, A. X. (2016). Resistance against *Leveillula taurica* in Pepper. U.S. Patent No 9,351,451. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.

European Commission. (2016). Facts and figures on organic agriculture in the European Union. European Commission, Bruselas, Bélgica.

European Commission. (2017). Communication from the Commission to The European Parliament, The Council, The European Economic and Social Committee and the Committee of the Regions: The future of food and farming. European Commission, Bruselas, Bélgica.

FAO e ITPS. (2015). Status of the World's Soil Resources (SWSR) – Main Report. Food and Agriculture Organization of the United Nations and Intergovernmental Technical Panel on Soils, Rome, Italy

FAOSTAT. Statistic division, Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponible en línea: <http://www.fao.org/faostat/> (visitado el 20 marzo 2023).

FiBL & IFOAM – Organics International. (2021). The World of organic agriculture. Statistics & emerging trends 2021 (Eds. Willer H, Travnicek J, Meier C, Schlatter B). Research Institute of Organic Agriculture (FiBL), Frick (Suiza), IFOAM – Organics International, Bonn (Alemania). 340 p.

Fita, A., Rodríguez-Burruezo, A., Boscaiu, M., Prohens, J., & Vicente, O. (2015). Breeding and Domesticating Crops Adapted to Drought and Salinity: A New Paradigm for Increasing Food Production. *Frontiers in Plant Science*, 6. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00978>

Fraser, C. M. 2004. All things great and small. *Trends in Microbiology* 12 (1) 7-8.

Gabor, B. K., Just, B. J., Huang, C., Jones, C. M., Vreugdenhil, D., Kniskern, J. M. (2017). Methods and Compositions for Producing Capsicum Plants with Powdery Mildew Resistance. U.S. Patent No 9,689,045. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.

Generalitat Valenciana. 2016. I Plan Valenciano de Transición Ecológica. Conselleria de Agricultura, Desarrollo Rural, Emergencia Climática y Transición Ecológica, Valencia.

Generalitat Valenciana. 2021. II Plan Valenciano de Transición Ecológica. Conselleria de Agricultura, Desarrollo Rural, Emergencia Climática y Transición Ecológica, Valencia.

Ginoux, P., Prospero, J. M., Gill, T. E., Hsu, N. C., & Zhao, M. (2012). Global-scale attribution of anthropogenic and natural dust sources and their emission rates based on MODIS Deep Blue aerosol products. *Reviews of Geophysics*, 50(3). Portico. <https://doi.org/10.1029/2012rg000388>

Hancock, J. F. (2004). *Plant Evolution and the Origin of Crop Species*. 2nd Ed. Wallingford, UK: CABI Publishing.

Heiser, C. B. (1964). Los chiles y ajíes de Costa Rica y Ecuador. *Ciencia y Naturaleza*, 7, pp. 50-57.

Jo, J., Venkatesh, J., Han, K., Lee, H. Y., Choi, G. J., Lee, H. J., Choi, D., Kang, B. C. (2017). Molecular mapping of PMR1, a novel locus conferring resistance to powdery mildew in pepper (*Capsicum annuum*). *Frontiers in Plant Science* 8: 2090. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.02090>

Khoury, C. K., Brush, S., Costich, D. E., Curry, H. A., Haan, S., Engels, J. M. M., Guarino, L., Hoban, S., Mercer, K. L., Miller, A. J., Nabhan, G. P., Perales, H. R., Richards, C., Riggins, C., & Thormann, I. (2021). Crop genetic erosion: understanding and responding to loss of crop diversity. *New Phytologist*, 233(1), 84–118. Portico. <https://doi.org/10.1111/nph.17733>

Kim, D. S., Hwang, B. K. (2012). The pepper MLO gene, CaMlo2, is involved in susceptibility cell death response and bacterial and oomycete proliferation. *The Plant Journal* 72:843-855. <https://doi.org/10.1111/tpj.12003>

Lau, E. T., Khew, C. Y., & Hwang, S. S. (2020). Transcriptomic analysis of pepper plants provides insights into host responses to *Fusarium solani* infestation. *Journal of Biotechnology*, 314–315, 53–62. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2020.03.014>

Lee, J., Chin, J. H., Ahn, S. N., y Koh, H.-J. (2015). Brief History and Perspectives on Plant Breeding. *Current Technologies in Plant Molecular Breeding*, 1–14. [https://doi.org/10.1007/978-94-017-9996-6\\_1](https://doi.org/10.1007/978-94-017-9996-6_1)

Lefebvre, V., Daubèze, A.-M., Rouppe van der Voort, J., Peleman, J., Bardin, M., & Palloix, A. (2003). QTLs for resistance to powdery mildew in pepper under natural and artificial infections. *Theoretical and Applied Genetics*, 107(4), 661–666. <https://doi.org/10.1007/s00122-003-1307-z>

Lin, K., Gong, L., Huang, Y., Liu, C., Pan, J. (2019). Deep learning-based segmentation and quantification of cucumber powdery mildew using convolutional neural network. *Frontiers in Plant Sciences* 10:155. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00155>

Linné, C. von, & Salvius, L. (1753). *Caroli Linnaei ... Species plantarum: exhibentes plantas rite cognitatas, ad genera relatas, cum differentiis specificis, nomini bus trivialibus,*

synonymis selectis, locis natalibus, secundum systema sexuale digestas...  
<https://doi.org/10.5962/bhl.title.669>

MAGRAMA, 2016. Estadísticas agrarias: Agricultura.  
<http://www.mapama.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticas-agrarias/agricultura/>

Malhi, G. S., Kaur, M., & Kaushik, P. (2021). Impact of Climate Change on Agriculture and Its Mitigation Strategies: A Review. *Sustainability*, 13(3), 1318.  
<https://doi.org/10.3390/su13031318>

Mangalassery, S., Mooney, S. J., Sparkes, D. L., Fraser, W. T., Sjögersten, S. (2015). Impacts of zero tillage on soil enzyme activities, microbial characteristics and organic matter functional chemistry in temperate soils. *European Journal of Soil Biology*, 68, 9-17.  
<https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2015.03.001>

Mao, Y., Li, X., Smyth, E. M., Yannarell, A. C., & Mackie, R. I. (2014). Enrichment of specific bacterial and eukaryotic microbes in the rhizosphere of switchgrass (*Panicum virgatum* L.) through root exudates. *Environmental Microbiology Reports*, 6(3), 293–306.  
<https://doi.org/10.1111/1758-2229.12152>

MAPA.2020. Producción ecológica – Estadísticas 2020. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid.

Mazzola, M., y Freilich, S. (2017). Prospects for Biological Soilborne Disease Control: Application of Indigenous Versus Synthetic Microbiomes. *Phytopathology*®, 107(3), 256–263.  
<https://doi.org/10.1094/phyto-09-16-0330-rvw>

McCoy, J. E., y Bosland, P. W. (2019). Identification of Resistance to Powdery Mildew in Chile Pepper. *HortScience*, 54(1), 4–7. <https://doi.org/10.21273/hortsci13596-18>

McLeod, M. J., Guttman, S. I., & Eshbaugh, W. H. (1982). Early evolution of chili peppers (*Capsicum*). *Economic Botany*, 36(4), 361–368. <https://doi.org/10.1007/bf02862689>

Molot, P. M., Leroux, J. P., y Ferriere H. (1987). Les oïdiums des cucurbitacées. II. Mise au point d'une technique de conservation des souches en culture axénique. *Agronomie, EDP Sciences*, 7(5), pp. 339-343.

Montes-Hernández, S., P. López-López, S. Hernández-Verduzco y M. Ramírez-Meraz. (2010). Recopilación y análisis de la información existente de las especies del género *Capsicum* que crecen y se cultivan en México (informe final). Campo Experimental Bajío, Campo Experimental Valles Centrales, Campo Experimental Sur de Tamaulipas INIFAP Escuela de

Agronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa (UAS). Dentro del Proyecto “Generación y recopilación de información de las especies de las que México es centro de origen y diversidad genética”, financiado por la Dirección General del Sector Primario y Recursos Naturales Renovables (DGSPRNR), perteneciente a la SEMARNAT y coordinado por la CONABIO. CONABIO. México D.F

Morales-Manzo, I. I., Fita, A., San Bautista, A., y Rodríguez-Burruezo, A. (2018). Oídio (*Leveillula taurica* (Lév. ) Arn.), enfermedad emergente potencialmente dañina en pimiento ecológico. En Actas del XIII Congreso de SEAE: “SISTEMAS ALIMENTARIOS AGROECOLÓGICOS Y CAMBIO CLIMÁTICO”, 14 - 17 noviembre 2018. La Rioja, España.

Morales-Manzo, I. I., Fita, A., San Bautista, A., y Rodríguez-Burruezo, A. (2019). *Capsicum* peppers screening against powdery mildew and study of in vitro media as alternative to preserve the inoculum. *Journal of Biotechnology*, 305, S67–S68. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2019.05.237>

Morales-Manzo, I. I., Rodríguez-Burruezo, A., Jiménez-Pérez, M., Luna-Ruiz, J. J., San-Bautista, A., y Fita, A. (2021). Novel sources of resistance to powdery mildew (*Leveillula taurica* (Lév.) Arnaud) in pepper. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 49(2), 12354. <https://doi.org/10.15835/nbha49212354>

Mostert, L., Groenewald, J. Z., Summerbell, R. C., Gams, W., & Crous, P. W. (2006). Taxonomy and Pathology of *Togninia* (Diaporthales) and its *Phaeoacremonium* Anamorphs. *Studies in Mycology*, 54, 1–113. <https://doi.org/10.3114/sim.54.1.1>

Ofaim, S., Ofek-Lalzar, M., Sela, N., Jinag, J., Kashi, Y., Minz, D., & Freilich, S. (2017). Analysis of Microbial Functions in the Rhizosphere Using a Metabolic-Network Based Framework for Metagenomics Interpretation. *Frontiers in Microbiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01606>

Pareek, A., Dhankher, O. P., & Foyer, C. H. (2020). Mitigating the impact of climate change on plant productivity and ecosystem sustainability. *Journal of Experimental Botany*, 71(2), 451–456. <https://doi.org/10.1093/jxb/erz518>

Perry, L., Dickau, R., Zarrillo, S., Holst, I., Pearsall, D. M., Piperno, D. R., Berman, M. J., Cooke, R. G., Rademaker, K., Ranere, A. J., Raymond, J. S., Sandweiss, D. H., Scaramelli, F., Tarble, K., & Zeidler, J. A. (2007). Starch Fossils and the Domestication and Dispersal of Chili

Peppers (*Capsicum* spp. L.) in the Americas. *Science*, 315(5814), 986–988. <https://doi.org/10.1126/science.1136914>

Rovira, A. D. y Wildermuth, G.B. (1981). The nature and mechanisms of suppression. En M.J.C. Asher, P. Shipton (Ed.), *Biology and Control of Take-all*. pp. 385–415. London: Academic. 538 pp.

Sánchez-Cañizares, C., Jorrín, B., Poole, P. S., Tkacz, A. (2017). Understanding the holobiont: the interdependence of plants and their microbiome. *Current Opinion in Microbiology*, 38, 188-196. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2017.07.001>

Shafi, J., Tian, H., & Ji, M. (2017). *Bacillus* species as versatile weapons for plant pathogens: a review. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 31(3), 446–459. <https://doi.org/10.1080/13102818.2017.1286950>

Shanthiyaa, V., Saravanakumar, D., Rajendran, L., Karthikeyan, G., Prabakar, K., & Raguchander, T. (2013). Use of *Chaetomium globosum* for biocontrol of potato late blight disease. *Crop Protection*, 52, 33–38. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2013.05.006>

Stankovic, S., Levic, J., Petrovic, T., Logrieco, A., & Moretti, A. (2007). Pathogenicity and mycotoxin production by *Fusarium proliferatum* isolated from onion and garlic in Serbia. *European Journal of Plant Pathology*, 118(2), 165–172. <https://doi.org/10.1007/s10658-007-9126-8>

Thakur, H., Sharma, A., Sharma, P., & Rana, R. S. (2021). An insight into the problem of bacterial wilt in *Capsicum* spp. With special reference to India. *Crop Protection*, 140, 105420. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2020.105420>

Tournefort, J.P. (1700). *Institutiones rei herbariae*, Tomus II.

Tripodi, P., Rabanus-Wallace, M. T., Barchi, L., Kale, S., Esposito, S., Acquadro, A., Schafleitner, R., van Zonneveld, M., Prohens, J., Diez, M. J., Börner, A., Salinier, J., Caromel, B., Bovy, A., Boyaci, F., Pasev, G., Brandt, R., Himmelbach, A., Portis, E., ... Stein, N. (2021). Global range expansion history of pepper (*Capsicum* spp.) revealed by over 10,000 genebank accessions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 118(34). <https://doi.org/10.1073/pnas.2104315118>

Vives-Peris, V., de Ollas, C., Gómez-Cadenas, A., (2019). Pérez-Clemente, R.M. Root exudates: from plant to rhizosphere and beyond. *Plant Cell Reports*, 39(1), 3–17. <https://doi.org/10.1007/s00299-019-02447-5>

Weller, D. M., Raaijmakers, J. M., Gardener, B. B. M., & Thomashow, L. S. (2002). MICROBIAL POPULATIONS RESPONSIBLE FOR SPECIFIC SOIL SUPPRESSIVENESS TO PLANT PATHOGENS. *Annual Review of Phytopathology*, 40(1), 309–348. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.40.030402.110010>

World Flora Online. Disponible en línea: <http://www.worldfloraonline.org/> (visitado el 20 de marzo 2023)

Zhalnina, K., Louie, K. B., Hao, Z., Mansoori, N., da Rocha, U. N., Shi, S., Cho, H., Karaoz, U., Loqué, D., Bowen, B. P., Firestone, M. K., Northen, T. R., & Brodie, E. L. (2018). Dynamic root exudate chemistry and microbial substrate preferences drive patterns in rhizosphere microbial community assembly. *Nature Microbiology*, 3(4), 470–480. <https://doi.org/10.1038/s41564-018-0129-3>

Zheng, Z. (2012). Exploration of mlo-based resistance in vegetable crops. Thesis, Wageningen University, Wageningen, NL.

## 9. Agradecimientos

El presente trabajo no podría haberse llevado a cabo sin el apoyo financiero de la beca predoctoral otorgada por CONACYT-CONCYTEP con el número identificador 47274 por parte del gobierno de México.

A mi madre y el resto de la familia, su apoyo es y ha sido invaluable.

A las amigas y amigos, apoyándome cada día a la distancia o presencialmente durante todos estos años.

A las y los colaborados dentro de la Universidad Politécnica de Valencia (UPV) y en particular en el Instituto Universitario de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana (COMAV), un espacio donde conocí a grandes personas en cada laboratorio y de quienes aprendí tanto.

Gracias a todas y todos.