



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



Instituto de Conservación y Mejora
de la Agrodiversidad Valenciana

**Evaluación de la fertilidad del suelo en
función de la actividad enzimática en
cultivo ecológico y convencional de
pimiento (*Capsicum* sp.)**

TRABAJO FINAL DE MÁSTER

ALUMNO:

CINDY LORENA AGUILAR MEDINA

DIRECTOR ACADÉMICO:

ADRIÁN RODRÍGUEZ BURRUEZO

CODIRECTORA ACADÉMICA:

M^a DOLORES RAIGÓN

CODIRECTORA EXPERIMENTAL:

ANA M^a RIBES MOYA

VALENCIA, SEPTIEMBRE DE 2017

TABLA DE CONTENIDO

1	<u>INTRODUCCIÓN</u>	9
1.1	IMPORTANCIA ECONÓMICA DEL PIMIENTO	10
1.2	MORFOLOGÍA, FISIOLOGÍA Y MANEJO DEL CULTIVO.....	13
1.3	TAXONOMÍA, DOMESTICACIÓN Y DIFUSIÓN DEL PIMIENTO Y FORMAS RELACIONADAS	16
1.3.1	Taxonomía.....	16
1.3.2	Origen, domesticación y difusión de pimientos y otros frutos <i>Capsicum</i>	21
1.4	DIVERSIDAD DE TIPOS VARIETALES EN <i>C. ANNUUM</i>	23
1.4.1	Variedades para consumo en fresco	24
1.4.2	Variedades para industria de conserva	24
1.4.3	Variedades para industria de pimiento deshidratado	25
1.4.4	Variedades mexicanas	25
1.5	SISTEMAS AGRÍCOLAS DE ALTOS Y DE BAJOS INSUMOS	26
1.6	CARACTERES DE INTERÉS EN LA MEJORA DEL PIMIENTO: USO EFICIENTE DE NUTRIENTES DISPONIBLES	27
1.6.1	Aprovechamiento del fósforo (P)	28
1.6.2	Importancia de los microorganismos y enzimas en la disponibilidad de nutrientes para las plantas.....	29
1.7	ASPECTOS DEL CULTIVO ECOLÓGICO.....	31
1.7.1	Generalidades del cultivo ecológico.....	31
1.7.2	Características.....	32
1.8	FERTILIDAD DEL SUELO.....	34
1.8.1	Determinación de la fertilidad del suelo.....	35
2	<u>OBJETIVOS</u>	39
3	<u>MATERIAL Y MÉTODOS</u>	41
3.1	MATERIAL VEGETAL	42
3.2	CONDICIONES DE CULTIVO	43
3.3	DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO	45

3.4	RECOGIDA DE MUESTRAS DE SUELO.....	45
3.5	ANÁLISIS DE ACTIVIDADES ENZIMÁTICAS: FOSFATASA ALCALINA Y CATALASA.....	46
3.5.1	Determinación de la actividad Fosfatasa Alcalina	46
3.5.2	Determinación de la actividad Catalasa.....	47
4	<u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	50
4.1	ANÁLISIS DE LA VARIANZA	51
4.2	ACTIVIDAD DE LA FOSFATASA ALCALINA: EFECTO DE LA VARIEDAD, DEL SISTEMA DE CULTIVO Y SU INTERACCIÓN	52
4.2.1	Efecto de la variedad y del sistema de cultivo.....	52
4.2.2	Efecto de la interacción variedad×sistema de cultivo	54
4.2.3	Evolución de la actividad fosfatasa en los distintos momentos y puntos de muestreo	60
4.3	ACTIVIDAD CATALASA: EFECTO DE LA VARIEDAD, DEL SISTEMA DE CULTIVO Y SU INTERACCIÓN.....	64
4.3.1	Efecto de la variedad y del sistema de cultivo.....	64
4.3.2	Efecto de la interacción variedad×sistema de cultivo	66
4.3.3	Evolución de la actividad catalasa en los distintos momentos y puntos de muestreo	71
5	<u>CONCLUSIONES</u>	76
6	<u>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u>	79

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Área cultivada en hectáreas y producción en miles de toneladas a nivel mundial, de las principales hortalizas en el año 2014 (FAO, 2017).....	10
Tabla 2. Área cultivada en hectáreas y producción en tonelada de pimientos en fresco en los diferentes continentes y su porcentaje respecto al mundial en 2014 (FAO, 2017).....	11
Tabla 3. Análisis provincial en España de la superficie (hectáreas), el rendimiento (kilogramos por hectárea) y la producción (toneladas), para el año 2016 (MAPAMA, 2017).	13
Tabla 4. Especies cultivadas del género <i>Capsicum</i> y especies relacionadas con su respectiva distribución geográfica (Modificado de Montes-Hernández et al., 2010)	17
Tabla 5. Lista de accesiones empleadas en el presente estudio, la respectiva especie a la que pertenecen y su procedencia.	42
Tabla 6. ANOVA para la actividad fosfatasa en las tres condiciones evaluadas: a mitad de cultivo del pimiento (intermedia), a final del cultivo (final) y en la rizosfera.	52
Tabla 7. ANOVA para la actividad Catalasa en las tres condiciones evaluadas: a mitad de cultivo de pimiento (intermedia), a final del cultivo (final) y en la rizosfera.....	52
Tabla 8. Valores medios en $\mu\text{moles p-nitrofenol liberado g}^{-1}$ suelo seco h^{-1} para la actividad fosfatasa a mitad de cultivo (intermedia), final de cultivo (final) y en rizosfera en dos tipos de sistemas agrícola: ecológico y convencional.	59
Tabla 9. Valores medios en $\text{mmoles H}_2\text{O}_2$ consumidos $\text{g}^{-1}\text{h}^{-1}$ para la actividad catalasa a mitad de cultivo, final de cultivo y en rizosfera en dos tipos de sistemas agrícola: ecológico y convencional.....	70

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Porcentajes de producción de pimientos frescos (izquierda) y deshidratados (derecha) de los principales productores en 2014 (FAO, 2017).....	12
Figura 2. Flor común de la especie <i>C. annuum</i> y variabilidad para forma y color de fruto dentro de esta especie.	18
Figura 3. Flores típicas y tipo de fruto con crecimiento erecto típico de la especie <i>C. frutescens</i>	19
Figura 4. Flor y frutos típicos de la especie <i>C. chinense</i>	19
Figura 5. Flor de color crema con manchas amarillas y verdes en la corola y frutos característicos de la especie <i>C. baccatum</i>	20
Figura 6. Flor con corola de color púrpura, con tallos pubescentes, y fruto con semillas de color negro. Características inherentes de la especie <i>C. pubescens</i>	21
Figura 7. Centro de origen y centros de domesticación del género <i>Capsicum</i> en la época precolombina (Heiser, 1976).	23
Figura 8. Localización geográfica de la parcela del cultivo convencional en el municipio de Sagunto (Valencia). Parcela (39°38'34.9"N 0°17'09.7"W) (Google, 2017)	43
Figura 9. Localización geográfica de la parcela del cultivo ecológico en el municipio de Sagunto (Valencia). Parcela (39°37'48,8"N 0°16'4,40"W (Google maps, 2017).	44
Figura 10. Comparación general de los sistemas de cultivo con respecto a la actividad fosfatasa alcalina al inicio del cultivo, a mitad de cultivo, a final de cultivo y en la rizosfera	63
Figura 11. Secuencia de las variedades estudiadas en función de la actividad fosfatasa, al inicio, a mitad, a final del ciclo de cultivo y en la rizosfera en el cultivo ecológico.	63
Figura 12. Secuencia de las variedades estudiadas en función de la actividad fosfatasa, al inicio, a mitad, a final del ciclo de cultivo y en la rizosfera en el cultivo convencional.	64
Figura 13. Comparación general de los sistemas de cultivo con respecto a la actividad catalasa al inicio del cultivo, a mitad de cultivo, a final de cultivo y en la rizosfera.	74
Figura 14. Secuencia de las variedades estudiadas en función de la actividad catalasa, al inicio a mitad, al final del ciclo de cultivo y en la rizosfera en el sistema ecológico.	74
Figura 15. Secuencia de las variedades estudiadas en función de la actividad catalasa, al inicio, a mitad y al final del ciclo de cultivo y en la rizosfera en el sistema de cultivo convencional.	75

FORMULARIO DEPÓSITO TRABAJO FINAL DE MÁSTER

AUTOR	1er APELLIDO	2º APELLIDO	NOMBRE	DNI/NIE
	AGUILAR	MEDINA	CINDY LORENA	Y4130288P
DIRECTOR/ES	1er APELLIDO	2º APELLIDO	NOMBRE	
	RODRIGUEZ	BARRUEZO	ADRIÁN	
	RAIGÓN	JIMENEZ	M ^a DOLORES	
	RIBES	MOYA	ANA M ^a	
UNIVERSIDAD		MÁSTER		
UNIVERSIDAD POLITÉCNICA VALENCIA DE		Mejora Genética Vegetal		
TÍTULO DE LA TESIS				
Evaluación de la fertilidad del suelo en función de la actividad enzimática en cultivo ecológico y convencional de pimiento (<i>Capsicum</i> sp.)				
RESUMEN	<p>El pimiento es uno de los cultivos hortícolas de mayor importancia en el mundo gracias a su gran número de usos, destacándose su uso gastronómico y su valor nutracéutico. En la actualidad este cultivo presenta un área cultivada mundial de casi dos millones de hectáreas. En este estudio se evaluó la fertilidad del suelo en dos parcelas de cultivo ecológico y convencional, que comprendían 20 variedades de pimiento. Las muestras de suelo se recogieron en la fase inicial, intermedia y final del cultivo y en la rizosfera. Se analizaron las actividades enzimáticas de la catalasa y la fosfatasa. El ANOVA arrojó que la variedad, el sistema de cultivo y su interacción, contribuyeron significativamente a la variación observada en las actividades enzimáticas (excepto el sistema de cultivo en la actividad catalasa de la rizosfera). En general, las actividades enzimáticas fueron mayores en el sistema convencional que en ecológico. La actividad fosfatasa osciló entre 200-312 $\mu\text{moles p-NP}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ en el cultivo ecológico y entre 243-507 $\mu\text{moles p-NP}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ en el cultivo convencional. Igualmente, la actividad catalasa varió entre 0,037-0,097 $\text{mmoles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ en el ecológico y entre 0,055-0,113 $\text{mmoles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ en el convencional. Sin embargo, en el cultivo ecológico, se vio un incremento de la actividad catalasa de un 75% en la rizosfera con respecto al inicio del cultivo, mientras que en el cultivo convencional el incremento en la rizosfera fue del 45%. Se pudieron identificar algunas variedades con una mayor respuesta enzimática, en el cultivo ecológico que en el convencional en algunas de las condiciones evaluadas.</p> <p>(español)</p>			

The pepper is one of the horticultural crops of greater importance in the world thanks to its great number of uses, emphasizing its gastronomic use and its nutraceutical value. At present this crop has a worldwide cultivated area of almost two million hectares. In this study, soil fertility was evaluated in two ecological and conventional plots, comprising 20 varieties of pepper. Soil samples were collected in the initial, intermediate and final phases of the crop and in the rhizosphere. The enzymatic activities of catalase and phosphatase were analyzed. The ANOVA showed that the variety, the culture system and its interaction, contributed significantly to the variation observed in the enzymatic activities (except the culture system in the catalase activity of the rhizosphere). In general, the enzymatic activities were greater in the conventional system than in the ecological system. Phosphatase activity ranged from 200-312 $\mu\text{g p-NP}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ in organic system and between 243-507 $\mu\text{g p-NP g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ in conventional system. Similarly, catalase activity ranged from 0.037-0.097 $\text{mmol g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ in the organic system and from 0.055-0.1133 $\text{mmol g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ in the conventional one. However, in the organic system, there was an increase in catalase activity of 75% in the rhizosphere with respect to the beginning of culture, whereas in the organic system the increase in the rhizosphere was 45%. It was possible to identify some varieties with a greater enzymatic response, in the organic system than in the conventional one in some of the evaluated conditions.

(inglés)

PALABRAS CLAVE	
PALABRAS CLAVE	DESCRIPTORES EN ESPAÑOL
	Fertilidad del suelo; Actividad enzimática; Interacción suelo-planta; <i>Cápsicum</i> sp.
	(mínimo tres)
	DESCRIPTORES EN INGLÉS
	Soil fertility; Enzymatic activity; Soil-plant interaction; <i>Cápsicum</i> sp
	(mínimo tres)

AGRADECIMIENTOS

Agradezco principalmente al Departamento del Chocó (Colombia), por la beca con la que pude financiar mis estudios de Máster.

A mis tutores Adrián Rodríguez, M^a Dolores Raigón y Ana M^a Ribes por su apoyo y guía durante todas las etapas de la elaboración de esta tesina.

A Loles y a mi compañero Iván por su guía en la realización de los experimentos en el Laboratorio de Química de ETSIAMN (UPV).

A mi familia, por su apoyo siempre y por las palabras de aliento en los momentos difíciles de éste proceso.

A mis amigos de siempre y mis amigos del máster por su apoyo y colaboración siempre que lo he necesitado.

A todas aquellas personas que de una u otra manera hicieron posible la realización de esta tesina.

1 INTRODUCCIÓN

1.1 IMPORTANCIA ECONÓMICA DEL PIMIENTO

El pimiento (*Capsicum* sp.) es uno de los cultivos hortícolas de mayor importancias en el mundo gracias a su gran número de usos. Comprende pimientos picantes y pimientos no picantes (“dulces”), los cuales se usan principalmente en la culinaria como colorante alimentario natural, condimento y especia, además se usa en algunas prácticas médicas y como extracto altamente picante en insecticidas y repelentes de uso animal. También pueden utilizarse como plantas ornamentales o como fuente de extractos para uso en diversos productos farmacéuticos o cosméticos (Giuffrida *et al.*, 2013). El Género *Capsicum* se originó en América, pero ha llegado a extenderse por muchos países del mundo (Nuez *et al.*, 2003). En la actualidad el cultivo del pimiento presenta un área cultivada mundial cercana a los dos millones de hectáreas (Tabla 1) (FAO, 2017) y se destaca por ser fuente de nutrientes bioactivos como el ácido ascórbico, provitamina A (carotenoides), compuestos fenólicos y potasio. Su contenido en antioxidantes naturales que han reconocido como beneficiosos en la prevención de distintos tipos de cáncer y enfermedades cardiovasculares (Navarro *et al.*, 2006).

Tabla 1. Área cultivada en hectáreas y producción en miles de toneladas a nivel mundial, de las principales hortalizas en el año 2014 (FAO, 2017).

Hortaliza	Área cultivada (ha)	Producción (1000 t)
Tomate	5.023.810	170.750
Sandía	3.477.439	111.009
Pimiento	1.937.370	32.324
Pepino	2.178.613	74.975
Judía verde	1.527.613	21.720
Guisante verde	2.356.340	17.426
Coles	2.470.275	71.778
Cebolla	5.298.873	88.475
Calabaza	2.004.058	25.196
Berenjena	1.870.728	50.193

Según datos de FAO (2017), Asia es el continente con mayor área destinada al cultivo del pimiento, seguido por África, América, Europa y Oceanía, abarcando más de la mitad

(60%) del total la superficie cultivada de pimiento en el mundo (Tabla 2). Además es el mayor productor de pimiento con una producción cercana al 70% de la producción mundial total. África ocupa el segundo lugar en superficie cultivada con un porcentaje de 18,75 de la producción mundial y produce el 9,97% del total producido en el mundo. El continente Americano por su parte, representa el 11,43% del área cultivada en el mundo, y un 13,31% de la producción total mundial. Europa ocupa el cuarto lugar en superficie (5,48%) y en producción de pimiento (9,25%) del total mundial. Por otro lado, los datos de producción por países, evidencian que China (con 49,95% de la producción total mundial), México (con 8,45%), Turquía (con 6,58%), Indonesia (con 5,8%), España (con 3,5%) y los Estados Unidos (con 2,83%) son los principales países productores de pimiento en el mundo (Figura 1). La producción de pimiento deshidratado es llevado a cabo principalmente por países Asiáticos, como la India (con un 39% de la producción total), Tailandia (con 8%) y China (con 8%) (Figura 1).

Tabla 2. Área cultivada en hectáreas y producción en tonelada de pimientos en fresco en los diferentes continentes y su porcentaje respecto al mundial en 2014 (FAO, 2017).

	Área cultivada (ha)	Porcentaje (%)	Producción (t)	Porcentaje (%)	Rendimiento (t/ha)
Asia	1.243.790	64,20	21.757.606	67,31	17,49
África	363.211	18,75	3.221.701	9,97	8,87
América	221.477	11,43	4.303.419	13,31	19,43
Europa	106.233	5,48	2.990.230	9,25	28,15
Oceanía	2.658	0,14	51.390	0,16	19,33
Mundial	1.937.369	100,0	32.324.346	100,0	-

Tabla 3. Análisis provincial en España de la superficie (hectáreas), el rendimiento (kilogramos por hectárea) y la producción (toneladas), para el año 2016 (MAPAMA, 2017).

Comunidades Autónomas	Superficie (ha)				(Rendimiento kg/ha)			
	Secano	Regadío		Total	Secano	Regadío		Pr. Total(t)
		Aire libre	Protegido			Aire libre	Protegido	
Galicia	–	560	642	1.202	–	52.302	56.401	65.499
P. de Asturias	41	10	–	51	8.000	15.000	–	478
Cantabria	7	–	–	7	16.000	–	–	112
País Vasco	112	131	50	293	8.629	16.302	32.996	4.752
Navarra	–	1.033	10	1.043	–	34.530	59.850	36.268
La Rioja	–	198	4	202	–	29.000	40.000	5.902
Aragón	–	131	–	131	–	1.947	–	2.220
Cataluña	2	250	22	274	3.900	22.023	46.151	6.529
Baleares	–	60	30	90	–	22.150	38.000	2.469
Castilla y León	–	144	7	151	–	21.672	28.000	3.317
Madrid	–	11	1	12	–	27.000	50.000	347
Castilla-La Mancha	2	1.185	–	1.187	15.000	39.154	–	46.428
C. Valencia	–	444	375	819	–	37.810	107.285	57.020
R. de Murcia	–	150	1.220	1.370	–	48.636	111.600	143.450
Extremadura	–	560	12	572	–	37.735	229.580	23.886
Andalucía	82	1.654	10.096	11.830	7.429	29.269	70.213	757.890
Canarias	5	55	172	232	10.000	38.800	80.640	16.072
ESPAÑA	251	6.576	12.641	19.470	8.380	34.613	74.591	1.172.600

1.2 MORFOLOGÍA, FISIOLOGÍA Y MANEJO DEL CULTIVO

El pimiento es una planta anual herbácea. Presenta un tallo de crecimiento determinado y erecto (Nuez *et al.*, 2003). Su sistema radicular es pivotante y profundo alcanzando una longitud entre 70 y 120 cm, con muchas raíces adventicias. Las hojas son lampiñas, enteras o con borde sinuado ligeramente a la base, su forma es entre ovales y lanceoladas, con un ápice bastante pronunciado y peciolo largo o poco aparente. Las flores aparecen generalmente solitarias en cada nudo, con el pedúnculo torcido hacia abajo en la antesis. El

cáliz es una única pieza con sépalos de color verdes que se endurecen hasta la maduración del fruto. La corola es blanquecina, y forma un tubo corto con la base de los pétalos. Los tipos más frecuentes de *C. annuum* presentan frutos tipo baya, huecos de superficie lisa y brillante, que pueden ser de distintas formas y colores característicos del cultivar. A lo largo de la pared del fruto hay dos o cuatro tabiques incompletos que se unen en la base sobre la placenta. En esta zona se insertan las semillas que son aplanadas pequeñas (4-5mm de diámetro) y de color blanco amarillento (Maroto, 2002).

En el cultivo del pimiento se pueden diferenciar cuatro fases fisiológicas: La primera fase es la germinación. A pesar de que el pimiento no es considerado una especie con latencia seminal, es frecuente que se dé un retraso en la emergencia de las semillas. En pimiento, distintos aspectos influyen en la velocidad y homogeneidad de la germinación, estos incluyen desde factores físicos como la temperatura y la humedad, hasta la variedad, la edad del fruto del que extraen las semillas y las condiciones de almacenamiento. La segunda fase es la del crecimiento vegetativo. La madurez de la planta es evidenciada al presentar de 8 a 12 hojas. Esa madurez es requerida para la siguiente fase de floración. Para la floración, además es necesario que haya ciertas condiciones climáticas tanto para que la planta florezca, como para que produzca un número mayor de flores. La temperatura óptima es de 12 °C y produce mejores resultados en la floración que las temperaturas mayores. El polen de las flores se puede ver afectado por las bajas temperaturas, pero si se logra producir la fructificación (cuarta fase) los frutos que resultan son partenocárpicos y/o con algunos defectos o características raras. A los 18°C de temperatura los frutos parecen no afectarse tanto. El color y otros cambios (como la maduración) que ocurren en los frutos, se dan gracias a la presencia de pigmentos carotenoides y antociano (Maroto, 2002).

Es claro que para que el cultivo del pimiento funcione, es fundamental el manejo adecuado de los factores climáticos. Del clima (temperatura y humedad) depende que otros factores importantes en el desarrollo del cultivo actúen satisfactoriamente. Tanto las bajas temperaturas como las altas, afectan al cultivo. Las bajas temperaturas afectan más que todo a los frutos (deformaciones) y las altas temperaturas además de causar el aborto de flores y frutos, provocan deficiencias nutrimentales por los cambios en el movimiento de los mismos dentro de la planta en dadas condiciones. El pimiento (especialmente las

variedades no picantes), se desarrollan de manera óptima con temperaturas que en el día estén entre 20-25°C y durante la noche entre 16-18°C. Por debajo de estas temperaturas el desarrollo se interrumpe y si llega a estar por debajo de 10°C su crecimiento se detiene. La caída de las flores por el contrario se genera por temperaturas por encima de 35°C. En general, las variedades de pimiento picantes requieren temperaturas más bajas que las requeridas por las variedades dulces (Maroto, 2002).

Los requerimientos de humedad del cultivo de pimiento están entre 50-70%. Es un cultivo bastante sensible a las condiciones de bajo porcentaje de humedad y de altas temperaturas, ya que se genera un aumento en la transpiración y se produce la caída de flores y frutos (Thompson y Kelly, 1957). La exigencia en cuanto a suelos es también alta. Suelos profundos, ricos, bien aireados y bien drenados, con un buen flujo del agua son necesarios para el cultivo del pimiento. Es recomendable que el suelo sea rico en materia orgánica que le aporte nitrógeno que necesitan las plantas en los primeros estadios de desarrollo del cultivo. Además tolera hasta un pH entre 5 y 7 (Nuez *et al.*, 2003).

Para la producción de plantas comerciales, se siembran en semilleros y luego con frecuencia se trasplantan manualmente o con ayuda de algunos instrumentos. Para evitar estreses se realiza con cepellón, aunque también puede hacerse a raíz desnuda, en una temporada adecuada en la que el cultivo pueda desarrollarse. El marco de plantación se establece en función del porte de la planta, que a su vez dependerá de la variedad comercial cultivada, por lo que es muy variable. Sin embargo, las densidades suelen estar entre 50.000 y 70.000 plantas/ha, con distancias entre líneas de 70 a 100 cm, y 25 y 50 cm entre plantas. Las labores culturales más requeridas, incluyen la eliminación de las malas hierbas antes y durante el cultivo, el aporcado para evitar el contacto directo del agua de riego con el tallo, además esta práctica ayuda a reforzar la base de la planta y favorece el desarrollo radicular. También la poda de formación que permita que se concentre la producción en dos o 3 ramificaciones normalmente, el entutorado para mantener erguida la planta de manera que se proteja el fruto de un choque contra el suelo y la poda de regeneración para estimular la regeneración de la planta luego de la recolección de los frutos. Gracias a que la fructificación del pimiento es escalonada en muchas variedades, la cosecha puede llegar a prolongarse dos o tres meses. Los factores que llevan a determinar el momento y la

frecuencia de la recolección de los frutos son, la demanda en el mercado, condiciones climáticas y sanitarias y estado fisiológico que puede llevar a una recolección antes de su madurez fisiológica en verde o en amarillo, naranja o rojo según interés.

1.3 TAXONOMÍA, DOMESTICACIÓN Y DIFUSIÓN DEL PIMIENTO Y FORMAS RELACIONADAS

1.3.1 Taxonomía

En el género *Capsicum* entran los frutos conocidos como pimientos, ajés, chiles, guindillas, chile pepper, tabasco, y otros (Bosland y Votava, 2012). Este género pertenece a la familia *Solanaceae*, subfamilia *Solanoideae*, tribu *Capsiceae* y comprende 31 familias Montes-Hernández *et al.*, 2010). Históricamente ha habido conflicto entre las distintas descripciones taxonómicas del género *Capsicum*. Esto se ha generado por la gran variabilidad que hay dentro de las especies cultivadas y la diversidad de criterios que se han usado para clasificarlas.

Montes-Hernández *et al.* (2010) mencionan que las bases de la clasificación taxonómica que se usa actualmente para las especies cultivadas y las silvestres relacionadas, fueron sentadas por Smith y Heiser (1957) y Heiser y Smith (1953) (tabla 4). A partir de esa clasificación se han realizado distintas aportaciones y se ha ido construyendo la nomenclatura con la que se diferencian ahora las cinco especies de pimientos domesticados y sus probables progenitores silvestres. Finalmente, con el fin de lograr un consenso sobre la taxonomía y la nomenclatura de las especies cultivadas, el International Board for Plant Genetic Resources (IBPG convocó una reunión de expertos sobre recursos genéticos de *Capsicum* en 1980 donde se lograron establecer las cinco especies cultivadas hoy conocidas.

Tabla 4. Especies cultivadas del género *Capsicum* y especies relacionadas con su respectiva distribución geográfica (Modificado de Montes-Hernández *et al.*, 2010)

Especie	Distribución
<i>C. annuum</i> L.	
<i>C. annuum</i> var. <i>annuum</i> - (D) ¹	Pantropical, ampliamente distribuida y cultivada principal-mente en países subtropicales y templados y el mundo en general
<i>C. annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> (Dunal) Heiser & Pickersgill - (S)	Desde el sur de Estados Unidos a Perú y Norte de Brasil
<i>C. baccatum</i> L.	Perú, Bolivia, Paraguay, Brasil, Argentina
<i>C. baccatum</i> var. <i>pendulum</i> (Willd.) - (D)	Cultivado en USA, México, Costa Rica, Sudamérica e India
<i>C. baccatum</i> var. <i>baccatum</i> - (S)	Colombia, Perú, Bolivia, Paraguay, Brasil y Argentina
<i>C. baccatum</i> var. <i>umbilicatum</i> (Vell.) Hunz. & Barboza - (S)	Cultivado en USA, México, Jamaica, Perú, Bolivia, Brasil, Paraguay, Argentina
<i>C. baccatum</i> var. <i>praetermissum</i> (Heiser & Smith.) Hunz.] - (S)	Centro y Sur de Brasil, Paraguay
<i>C. chinense</i> Jacq. - (D)	Cultivado en USA, México, Central América, Ecuador, Perú, Bolivia, Brasil, Argentina, China, Japón, África occidental
<i>C. frutescens</i> L. - (D)	Cultivado en USA, México, Centro y Sudamérica, África, India, China, Japón
<i>C. pubescens</i> Ruiz y Pav. - (D)	Cultivado en México, Centro y Sudamérica

1= (D): Especie domesticada; (S): Especie silvestre.

A continuación se presenta una descripción general cada una de las cinco especies cultivadas de *Capsicum*:

C. annuum var. *annuum*

Es la especie del género *Capsicum* con mayor diversidad varietal y también la más conocida, extendida y cultivada a nivel mundial, siendo la más predominante en España y

Europa (Rodríguez-Burruezo y Nuez, 2006). Presenta generalmente flores blancas, grandes y solitarias (una por cada nudo) aunque en ocasiones pueden ser fasciculadas, los pétalos son rectos, el cáliz dentado y generalmente sin constricción anular en la base dónde se une con el pedicelo. Los frutos son de color verde y rojos en estado inmaduro y de color naranja, púrpura y amarillo cuando están maduros. Tienen distintos tamaños y formas, suelen tener carne firme y semillas de color crema a amarillo (D'Arcy y Eshbaugh, 1974).



Figura 2. Flor común de la especie *C. annuum* y variabilidad para forma y color de fruto dentro de esta especie.

C. frutescens

El corto crecimiento, y la gran cantidad de flores (2 o más por nudo) de esta especie, la hacen ideal para la jardinería de maceta. Las flores son blancas con una corola blanca verdosa o verdosa sin constricción de cáliz y tienen el mismo ancho en todas partes. A menudo producen racimos de frutos, que crecen justo por encima de su follaje y les da una apariencia ornamental. La mayoría de los frutos son pequeños, crecen erguidos y suelen ser de forma lanceolóide o elipsoide-cónica. Los frutos son amarillos al principio, cuando maduran oscurecen y toman un color rojo gradualmente, mostrando varios tonos de rojo durante las diferentes etapas de maduración. El fruto maduro es pendiente y deciduo, con carne blanda generalmente. Las semillas son de color crema a amarillo (Bosland, 1996; D'Arcy y Eshbaugh, 1974).



Figura 3. Flores típicas y tipo de fruto con crecimiento erecto típico de la especie *C. frutescens*.

C. chinense

Incluye como tipo varietal más conocido al chile habanero. Esta especie presenta dos o más flores por nudo (en ocasiones solitarias). La corola es generalmente blanca-verdosa (a veces púrpura o blanca-cremosa), pétalos rectos y sin manchas en la base. Las anteras son de color violeta a azul, raramente amarillas (Smith y Heiser, 1957). El pedicelo es erecto o declinante a la antesis. El cáliz del fruto maduro presenta una constricción anular en la unión del pedicelo. Los frutos de *C. chinense* son pendientes, de carne firme, de colores marrón- rojo, melocotón, amarillo naranja, amarillo limón, o crema, de varias formas y las semillas de color crema a amarillo (D'Arcy y Eshbaugh, 1974).



Figura 4. Flor y frutos típicos de la especie *C. chinense*.

C. baccatum var. *pendulum*

Conocido en Sur América como ají y en España como guindillas. La característica más distintiva de esta especie se encuentra en la flor (corola y antera). Presenta una flor por

nudo (a veces 2 o más). Pedicelos erectos o pendientes en la antesis. La corola rotada con áreas bronceadas o amarillo verdoso en la base, diseccionada por la red de venas, cáliz dentado prominentemente sin constricción anular (Heiser y Smith, 1953. Anteras amarillas y filamentos muy largos. El color de los frutos puede ser marrón, rojo, naranja, o amarillo limón, pendientes, muy raramente erectos, de carne firme. Sus formas son variadas, aunque normalmente alargados, semillas de color crema a amarillo (Bosland, 1996; D'Arcy y Eshbaugh, 1974). El número cromosómico $2n = 24$, con un par de cromosomas acrocéntricos. Esta especie está ampliamente distribuida en América del Sur.



Figura 5. Flor de color crema con manchas amarillas y verdes en la corola y frutos característicos de la especie *C. baccatum*.

C. pubescens

En lugar de flores blancas, tiene flores púrpuras, anteras púrpura a violeta con grandes nectarios. La presencia de pubescencia visible de las hojas y semillas negras distingue fácilmente este pimiento de cualquiera de las otras especies. Además presenta tallos frecuentemente estriados, nudos frecuentemente de color púrpura oscuro; hojas ovaladas, frecuentemente rugosas, margen suave o ciliado: flores normalmente solitarias; cáliz con 5 o 6 dientes. La corola está rotada, raramente semicampanulada. Los fruto pueden ser rojo, naranja, amarillo naranja, amarillo limón, o marrón, de forma alargado o globosa, pendiente, raramente erecto (Bosland, 1996; D'Arcy y Eshbaugh, 1974).



Figura 6. Flor con corola de color púrpura, con tallos pubescentes, y fruto con semillas de color negro. Características inherentes de la especie *C. pubescens*.

1.3.2 Origen, domesticación y difusión de pimientos y otros frutos *Capsicum*

Las especies que conforman el género *Capsicum* se originaron en el continente Americano (Figura 7). Según el consenso general al que han llegado los botánicos, el área de origen nuclear para el género *Capsicum* se encuentra en las tierras altas de Bolivia. A partir de ahí las especies silvestres se irradiaron hacia los Andes y las tierras bajas de la Amazonía (Chiou y Hastorf, 2014) y hacia el exterior a través de las Américas pre-holocénicas (McLeod *et al.*, 1982,1983). Según la hipótesis explicada por McLeod *et al.* (1982), la distribución y domesticación de los grupos y especies asociados a las especies silvestre se puede explicar con la separación en 3 grupos. El grupo de flores púrpuras en el que se incluye *C. pubescens* (especie domesticada) se habría establecido gracias a la migración de especies silvestres asociadas (*C. eximium*) a las tierras altas de los Andes. El grupo de flores blancas al que pertenece *C. baccatum*, parece haberse establecido por la migración del ancestro, desde las zonas centro-sur de Bolivia y zonas circundantes hacia hábitats más secos en las tierras bajas (sur de Bolivia) y la cuenca amazónica. Por otro lado, el grupo de flores blancas al que pertenece *C. annuum* originado a partir del mismo ancestro de *C. baccatum*, asociado a hábitats más húmedos, parece haberse distribuido originalmente por las tierras bajas tropicales de Sudamérica y Centroamérica. Pickersgill (1969), propuso que el complejo *annuum* experimentó al menos dos procesos de domesticación, por un lado en la Amazonía dando lugar a *C. frutescens* y *C. chinense* y, por otro lado, en México generando *C. annuum*.

Los procesos de domesticación llevaron a modificaciones en la planta de pimiento, principalmente en los frutos. Gracias a la labor de seleccionador (empírico) del hombre se conservó una gran diversidad de plantas con frutos de distintos colores, formas, tamaños y sabores. Hubo una variación en el sabor y en la intensidad del sabor del fruto encontrando desde dulce hasta muy picante. De igual manera la intensidad de color en estado inmaduro varía desde blanco hasta verde intenso y en estado maduro desde amarillo a rojo oscuro. La forma va desde larga y estrecha hasta corta y redondeada y porte de recto a pendiente (Pochard *et al.*, 1992).

Después del descubrimiento de América el pimiento se difundió ampliamente por todo el mundo y pronto fue bien conocido en Europa. El pimiento llegó a España, de la mano de Cristóbal Colón, fue encontrado por él y sus hombres a finales del siglo XV en la isla antillana La Española, cuando estaban en la búsqueda de una ruta hacia las especias de Asia, con el fin de expandir el comercio Allí. Al encontrarse axí / ají, como era llamado por los indígenas Arawak, los españoles lo llamaron pimiento (pimienta) ya que su sabor y picante les recordaba el pimiento asiático. La posibilidad de sustituir a la carísima pimienta (*Piper nigrum* L.) procedente de oriente, y la facilidad de cultivo en adaptarse a las condiciones de españolas, fueron las causas de su rápida expansión. En el siglo XVI ya se había difundido su cultivo en España, desde donde se distribuyó al resto de Europa (Mediterráneo, Inglaterra y Europa Central) (Namesny, 2006) y del mundo con la colaboración de los portugueses (Andrews, 1984), quienes llevaron a *C. frutescens* y *C. chinense* desde Brasil hacia África e India (Andrews, 1995).

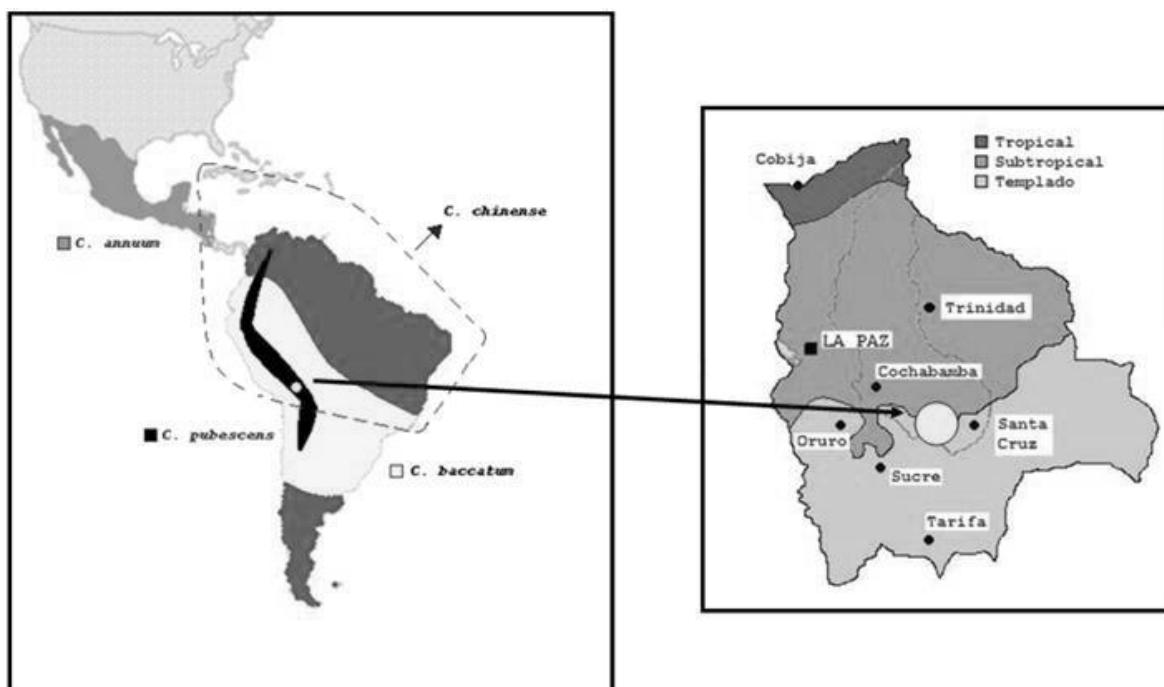


Figura 7. Centro de origen y centros de domesticación del género *Capsicum* en la época precolombina (Heiser, 1976).

1.4 DIVERSIDAD DE TIPOS VARIETALES EN *C. ANNUUM*

Las variedades más cultivadas de *Capsicum* en Europa pertenecen principalmente a la especie *C. annuum*. Esta especie cultivada en España, se caracteriza por ser muy heterogénea, en función de las demandas de utilización del producto, exportación, mercado interior o tipo de industria (para consumo en fresco o para conservas). A estos se le suman las preferencias ligadas a las tradiciones locales, los sistemas de producción (al aire libre o en invernaderos) y la concentración de la maduración (agrupada vs escalonada).

Las variedades más comunes en España son de tipo grueso (tipo bell), tipo morrón y tipos de tres o cuatro cascós. La selección por adaptación progresiva a distintas condiciones, que han experimentado los recursos genéticos introducidos al país, ha llevado a que existan una gran cantidad de variedades locales y ecotipos. Aunque anteriormente las variedades que se cultivaban eran principalmente estándar, en la actualidad se han introducido híbridos

con mayor rendimiento y con resistencias bióticas y abióticas. Se presentan a continuación los principales tipos varietales dentro de *C. annuum* a nivel general:

1.4.1 Variedades para consumo en fresco

Las variedades de pimiento destinadas al consumo en fresco se caracterizan por ser productivas, homogéneas, con frutos de cuajado fácil y homogéneo, precocidad adecuada, resistencia a enfermedades y fácil manipulación postcosecha. Generalmente son pimientos con frutos tipo cónico-alargado (tipo dulce italiana), frutos tipo cuadrado (de maduración en amarillo, naranja y rojo) y también frutos tipo rectangular (con maduración en amarillo y rojo).

A pesar de que el pimiento es una planta autógama y el vigor híbrido no se expresa de la misma manera que en las plantas alógamas, la generación de híbridos F1 de pimientos permite una mayor homogeneidad y mejor cuajado. Por lo que las empresas productoras de semillas ofrecen frecuentemente distintas variedades F1 a los agricultores para producciones intensivas. De manera que los híbridos tienen una corta permanencia en los mercados y una renovación constante, y además representa una menor diversidad genética. El uso de variedades tradicionales aunque en menor medida, aún persiste en los sistemas productivos tradicionales que se hacen al aire libre (Nuez *et al.*, 2003).

1.4.2 Variedades para industria de conserva

En España la producción de variedades de pimiento de conserva está enfocada a la conserva al natural, conserva en vinagre (encurtidos) y congelados. Siendo las más importantes las dos primeras. En la conserva al natural de frutos asados enteros es la de mayor popularidad en España. Para eso se utilizan al menos tres tipos varietales de pimiento que son los Morrones, Piquillos y Picos. Sin embargo cada vez más, otros tipos de variedades usadas principalmente para consumo en fresco son también usadas para conservas, sobretodo se trata de una producción descartada para comercialización.

Los tipos varietales para conserva son seleccionados por su alta productividad, resistencia al agrietado y al almacenamiento antes del proceso industrial, resistencia al proceso de

conservación con textura de carne adaptadas al proceso, color estable e intenso, carne gruesa, uniformidad del tamaño y el color, forma del fruto y, buena calidad organoléptica, adaptación al cultivo y recolección mecanizados y resistencia a plagas y enfermedades (Nuez *et al.*, 2003).

Los híbridos F1 no se utilizan en los cultivos de pimiento para conserva, principalmente porque el alto precio de la semilla repercute en el costo final del producto. Sin embargo existen unos híbridos destinados a la conserva.

1.4.3 Variedades para industria de pimiento deshidratado

La industria de pimiento deshidratado, incluye tipos varietales usados para la producción de pimentón. El pimentón es producto de la selección y deshidratación de frutos de variedades redondas rojas por ejemplo del tipo Bola y del tipo Ñora, que sirven especialmente para la obtención de “cáscara”, ya que es la materia prima de las industrias extractoras de colorantes, y condimentos.

En la industria de pimiento deshidratado no es común el uso de híbridos F1, aunque se han desarrollado y tenido aplicación algunas variedades híbridas en esta industria (Nuez *et al.*, 2003). Se han realizado procesos de mejora para mayor rendimiento y contenido en carotenoides de los frutos.

1.4.4 Variedades mexicanas

Las variedades mexicanas de pimiento más comunes, son las del tipo chile Jalapeño, chile habanero, chile poblano, chile serrano entre otros. La mayoría se trata de variedades picantes, utilizadas tanto en fresco como para encurtir o para la producción de chipotle (como es el caso de chile jalapeño, el fruto se deja madurar hasta su deshidratación). En México, existen algunas variedades mejoradas de pimiento, aunque organolépticamente no se aprecian como variedades tradicionales (Nuez *et al.*, 2003).

1.5 SISTEMAS AGRÍCOLAS DE ALTOS Y DE BAJOS INSUMOS

En la agricultura moderna el amplio uso de fertilizantes puede llevar a un excesivo aporte de nutrientes a los cultivos y sobrepasar la capacidad de absorción de las plantas, además generar un riesgo ambiental, y aumentar los costos para el agricultor por los altos costos de los fertilizantes (Meena *et al.*, 2017; Ismail, 2010). Predominan las prácticas agrícolas intensivas, dependen de altos insumos de energía y recursos para lograr y mantener un nivel de producción deseado. Se basan en el uso de insumos externos, como fertilizantes sintéticos, plaguicidas y herbicidas, en la mecanización del trabajo, reemplazo de la mano de obra y en la adopción de sistemas de siembra de monocultivo. Este tipo de sistema agrícola ha ido generando una disminución importante de la biodiversidad y degradando los recursos naturales por la contaminación por pesticidas, la erosión de suelos, la salinización entre muchos otros (Kumar *et al.*, 2017b). La reducción del rendimiento en los cultivos por la generación de resistencia en las plagas, es otro inconveniente importante que se genera por la adopción de sistemas agrícolas de altos insumos, esto se da por el uso excesivo de plaguicidas y por la tendencia que hay de establecer monocultivos.

En respuesta a la preocupación generada por los efectos adversos de la agricultura moderna, se vienen haciendo esfuerzos para lograr una mayor aplicación de sistemas agrícolas sostenibles, de bajos insumos que reduce lo máximo posible el uso de insumos externos (plaguicidas, herbicidas y fertilizantes sintéticos) y los sustituye con insumos internos. El éxito de la agricultura sostenible se basa en el equilibrio entre: reducir las pérdidas de nutrientes, aumente la disponibilidad de los nutrientes, suministrar la cantidad adecuada de nutrientes. En este tipo de práctica agrícola se busca generar interacciones ecológicas y asociaciones de los componentes biológicos, de manera que se den los mecanismos que lleven a la fertilidad del suelo, la productividad y la protección del cultivo.

La agricultura de bajos insumos no prohíbe el uso de insumos sintéticos, lo que ocurre es que cuando se aplican los principios esta necesidad desaparece. El principio básico es que se considera la agricultura tanto en su gestión agrícola como ecológica. Los conceptos importantes para una agricultura de bajos insumos son: la diversificación tanto de cultivos como de animales, rotación de las cosechas y ciclos de materia orgánica. Las técnicas varían desde el uso del conocimiento tradicional al uso de modernos herbicidas

bacteriológicos e insecticidas que sustituyen sus equivalentes sintéticos. También se incluye el mezclar cosechas, el abono en verde, compuestos, empleo de material orgánico local, reducción del trabajo del suelo y preparados biodinámicos. En la agricultura de bajos insumo, la mayor productividad en los cultivos se consigue gracias a los procesos ecológicos y haciendo uso principalmente de los recursos locales y del material genético específico de cada zona (Villalba y Estrada, 1995).

1.6 CARACTERES DE INTERÉS EN LA MEJORA DEL PIMIENTO: USO EFICIENTE DE NUTRIENTES DISPONIBLES

En un sistema agrícola, factores como la falta o exceso de fertilización y el déficit hídrico puede generar grandes disminuciones en la producción, por lo que se requiere un uso eficiente de los nutrientes por parte de la planta. El uso eficiente de nutrientes se define como el rendimiento por unidad de nutriente suministrado y comprenden la capacidad de extraer nutrientes del suelo (eficiencia en la absorción) y la capacidad de convertir los nutrientes absorbidos por el cultivo en grano (la eficiencia en la utilización de nutrientes). Tanto la eficiencia de captación como la eficiencia de utilización de un nutriente determinado, depende de otros factores como la disponibilidad de otros nutrientes, disponibilidad de agua y de irradiación y del potencial de producción del cultivo (McDonald *et al.*, 2013).

El mejoramiento de la eficiencia de uso de los nutrientes en los sistemas agrícolas puede lograrse, o bien siguiendo unas prácticas de manejo de cultivo que beneficien más la absorción de los nutrientes del suelo por las plantas (Meena *et al.*, 2017), o mejorando los cultivares que muestren una mayor eficiencia de uso de los nutrientes. La selección de cultivares de plantas tolerantes a un bajo suministro de nutrientes puede aumentar la productividad en suelos de baja fertilidad y reducir los requerimientos de fertilizantes (Gourley *et al.*, 1994).

Para la mejora del uso de nutrientes es necesario que haya variaciones genéticas útiles y así mismo es necesario entender la base genética del carácter y definir criterios de selección

apropiados, que a menudo requerirán una comprensión de los determinantes fisiológicos importantes de la eficiencia de los nutrientes. Si el mejoramiento para este carácter se realiza en una región donde la disponibilidad de nutrientes del suelo es variable, tanto la eficiencia de absorción como la eficiencia de utilización son útiles y deben combinarse (McDonald *et al.*, 2013). Al disminuir la pérdida de nutrientes se consigue mejorar el rendimiento y calidad de los cultivos, lo cual indirectamente, genera una reducción de los costos por uso de fertilizantes (Baligar *et al.*, 2001) y en una protección del medio ambiente al evitar el uso excesivo de fertilizantes. De ahí la importancia que tiene hoy en día este tema.

1.6.1 Aprovechamiento del fósforo (P)

El fósforo es uno de los elementos minerales más importantes para el crecimiento, desarrollo y rendimiento de las plantas. Es esencial para procesos metabólicos como la fotosíntesis y la producción de azúcar y energía. Se encuentra en el suelo en formas orgánicas e inorgánicas. Las plantas captan el fósforo que requieren a partir de aniones fosfato (HPO_4^{-2} y $\text{H}_2\text{PO}_4^{-1}$ principalmente) que se encuentran dentro de la solución del suelo. Sin embargo la mayor parte del P del suelo está en formas insolubles no disponibles para las plantas y por lo tanto debe ser aportado de manera regular para satisfacer las necesidades de la planta (Jiménez-Moreno y Fernández-Escobar, 2017; Mohammad *et al.*, 2010; Richardson, 2001). En el suelo la enzima fosfatasa tiene la tarea de mineralizar el fosfato para que quede disponibles para las plantas.

La escasez de P soluble en el suelo, lleva a que se opte generalmente por la aplicación de fertilizantes para generar la mayor productividad de los cultivos, pero esta práctica además de ser costosa, genera una serie de efectos negativos en los ecosistemas. Esto ha llevado a una preocupación mundial por encontrar alternativas más sustentables y más amigables con el medio ambiente, que permitan un uso más eficiente del fósforo por parte de las plantas. Las alternativas incluyen tanto los procesos de mejora como la creación de asociaciones entre las plantas y microorganismos que ayuden a lograr el uso más eficiente del fósforo a partir de fuentes del suelo (Richardson, 2001).

Los procesos biológicos y metabólicos que ocurren en la superficie de las raíces tienen una gran influencia en la disponibilidad del fósforo del suelo para las plantas. Estos procesos pueden ser de origen vegetal o microbiano (Mohammad *et al.*, 2010). Se han reportado numerosos microorganismos de rizosfera que poseen actividad solubilizante del P (Shukla y Varma, 2010).

1.6.2 Importancia de los microorganismos y enzimas en la disponibilidad de nutrientes para las plantas

El suelo es un medio natural, que guarda una gran diversidad, que incluye a hongos, microorganismos y muchos invertebrados distintos (Hinsinger, 2009). Los microorganismos del suelo están estrechamente asociados con las partículas del suelo, principalmente los complejos de arcilla y materia orgánica y juegan un papel importante en mineralización de la materia orgánica. Su actividad e interacción con otros microorganismos y organismos más grandes y con las partículas del suelo dependen mucho de las condiciones a nivel de microhábitat que pueden ser distintas entre microhábitats incluso a distancias muy pequeñas (Shukla y Varma, 2010).

Bajo el sistema biológico suelo-planta existe un número de factores del suelo y del medio ambiente que aumentan la disponibilidad de nutrientes de las plantas y la productividad de los cultivos. En este contexto, los más influyentes podrían ser los organismos que componen la comunidad microbiana del suelo de la rizosfera (Mendes *et al.*, 2011). La actividad microbiana en la rizosfera se ve altamente influenciada por las sustancias o rizodeposiciones que exudan las raíces de las plantas (Oburger *et al.*, 2014). Una parte de los productos fotosintéticos de las plantas es liberada al suelo en forma de rizodeposiciones, esto ayuda a que se lleven a cabo las interacciones entre las raíces de la planta, los exudados de las raíces, el suelo y los microorganismos. Las plantas dependen de la capacidad de las raíces para comunicarse con los microorganismos rizosféricos a través de vías de señalización que crean una interrelación entre las plantas y los microorganismos (Meena *et al.*, 2013) y tienen la capacidad de estimular o inhibir el crecimiento de microorganismos rizosféricos específicos mediante la liberación de metabolitos secundarios en la rizosfera. También es bien conocido que los microbios pueden utilizar las sustancias

derivadas de plantas que comprenden compuestos diferentes (por ejemplo, ácidos orgánicos, azúcares, vitaminas y aminoácidos) como nutrientes principales para su crecimiento y desarrollo (Nath *et al.*, 2017; Razavi *et al.*, 2016). Se ha visto que la excreción de ácidos orgánicos por parte de las plantas puede estimular la actividad microbiana y por ende las actividades enzimáticas, debido a la liberación de carbono orgánico de las raíces y a la producción de CO₂ por las raíces y a los microorganismos de la rizósfera. La velocidad de desarrollo de las bacterias del suelo suele ser mucho más rápido en presencia de fuentes carbonadas y nitrogenadas fáciles de descomponer (Efron *et al.*, 2012).

Las interacciones beneficiosas planta-microbios en la rizosfera son determinantes primarios de salud vegetal. Entre los diferentes simbioses vegetales, los hongos micorrízicos arbusculares y bacterias de nódulos radiculares *Rhizobium* spp. Son los dos simbioses de raíces más importantes. Desempeñan un papel clave en los ecosistemas, la productividad de las plantas, la nutrición de las plantas y la resistencia a las enfermedades (Meena *et al.*, 2017; Akhtar *et al.*, 2011).

Este tipo de interacciones mejoran la disponibilidad de los principales nutrientes de las plantas (Meena *et al.*, 2017). Temas relacionados con los microorganismos del suelo, son cada vez más estudiados para conocer la calidad y el estado de salud de los suelos, debido a que afectan directa o indirectamente las propiedades físico-químicas de los suelos y por lo tanto su fertilidad, a través de sus actividades metabólicas (Shukla y Varma, 2010).

La información de las actividades de los microorganismos del suelo, puede ser proporcionada por las actividades enzimáticas del suelo. Numerosos estudios han sido publicados sobre el uso potencial de la actividad enzimática como un índice de productividad del suelo o actividad microbiana (Badiane *et al.*, 2001; Shukla y Varma, 2010). La actividad enzimática en el suelo resulta de la actividad de las enzimas que se van acumulando y de la actividad enzimática de microorganismos proliferantes. Las fuentes de enzimas acumuladas son principalmente células microbianas pero también de originan a partir de residuos vegetales y animales (Oburger *et al.*, 2014) o son liberadas por las raíces de las plantas.

Las enzimas que se acumulan en el suelo son enzimas libres tales como las exoenzimas que son liberadas de células vivas, las endoenzimas liberadas de células desintegradas y enzimas unidas a constituyentes celulares. Estas enzimas desempeñan funciones bioquímicas claves en el proceso general de descomposición de la materia orgánica en el sistema del suelo. Son importantes para catalizar varias reacciones importantes necesarias para los procesos de vida de los microorganismos en los suelos y la estabilización de la estructura del suelo. Tanto las enzimas producidas por la liberación directa desde las raíces o por lisis de las células de las raíces como las producidas por los microbios, son los principales factores biológicos de la descomposición de la materia orgánica y el ciclo de los nutrientes como el carbono, el nitrógeno y fósforo (Razavi *et al.*, 2016; Shukla y Varma, 2010).

Los niveles de enzimas en los sistemas del suelo varían en cantidades principalmente debido al hecho de que cada tipo de suelo tiene diferentes cantidades de contenido de materia orgánica, composición y actividad de sus organismos vivos y la intensidad de los procesos biológicos. En la práctica, las reacciones bioquímicas se producen principalmente a través de la contribución catalítica de enzimas y sustratos variables que sirven como fuentes de energía para microorganismos (Shukla y Varma, 2010).

La unión de enzimas a las superficies del suelo puede tener lugar a través de interacciones iónicas, enlaces covalentes, enlace de hidrógeno, atrapamiento de la enzima por coloides del suelo y otros mecanismos. Estas enzimas pueden incluir amilasa, arilsulfatasas, plantas glucosidasa, celulosa, quitinasa, deshidrogenasa, fosfatasa, proteasa y ureasa liberadas de las (Shukla y Varma, 2010).

1.7 ASPECTOS DEL CULTIVO ECOLÓGICO

1.7.1 Generalidades del cultivo ecológico

La agricultura ecológica, es también conocida como agricultura orgánica o biológica en otros países del mundo. Es un sistema de producción agrícola que excluye los fertilizantes químicos, pesticidas, fitohormonas y demás productos químicos de síntesis. Los

agricultores ecológicos dependen en cambio de métodos de cultivo naturales y conocimientos científicos ecológicos modernos para maximizar la salud y la productividad a largo plazo del ecosistema, mejorar la calidad de los productos y proteger el medio ambiente (Morgera *et al.*, 2012).

FAO (1999) menciona que la Comisión del Codex Alimentario lo definió como un “sistema global de gestión de la producción que fomenta y realza la salud de los agroecosistemas, inclusive la diversidad, los ciclos naturales y la actividad biológica del suelo...”. Este sistema respeta el entorno, produciendo alimentos sanos, de la máxima calidad. Contribuye a la fertilidad del suelo, a la conservación a largo plazo del suelo, el agua y el aire, y a la protección de los hábitats de especies vegetales y animales silvestres y de su diversidad genética.

Cada vez es mayor la preferencia de los consumidores por los alimentos ecológicos (Morgera *et al.*, 2012) y también el número de hectáreas de tierra destinadas a la agricultura ecológica en el mundo. Del 2013 al 2014 dieron reportadas aproximadamente 500.000 hectáreas más de agricultura ecológica. En el 2014 en el mundo, había 43,5 hectáreas de tierras la agricultura ecológica, incluyendo las áreas en conversión. Las regiones con las mayores áreas de agricultura ecológica son Oceanía que contaba hasta el 2014 con 17,3 millones de hectáreas (el 40% del área de la agricultura ecológica mundial) y Europa con 11,6 millones de hectáreas (el 27%). En cuanto a las regiones, en Europa solo el 2% del área agrícola está destinada agricultura ecológica, y en la Unión Europea el 5,7 % es de agricultura ecológica (Willer y Lernoud, 2016). A nivel de la Unión Europea España, Italia, Francia y Alemania son los principales productores ecológicos.

1.7.2 Características

En general, la agricultura ecológica se caracteriza por proteger el ambiente y promocionar la salud. Mantiene lo orgánico de un producto desde el principio hasta el fin. Con el fin de producir alimento sanos y de mejor calidad, se trabaja por mantener la fertilidad del suelo y su estructura al largo plazo, optimizando las condiciones para la actividad biológica.

Además favorece la biodiversidad tanto del sistema agrícola como de sus alrededores y se promueve el reciclaje de materiales en la unidad productiva.

La fertilización en un sistema ecológico comprende objetivos agrícolas y ambientales. Es respetuosa con el medio ambiente y genera una agricultura sostenible. Se basa en principios estrictos que prohíben el uso de fertilizantes minerales, y los reemplaza por prácticas como la incorporación de materiales orgánicos formadores del humus, el cultivo de abonos verdes, y siembra de leguminosas. Se usa el cultivo de leguminosas como cultivo principal, como abono verde o asociadas con otras plantas, para favorecer la fijación del nitrógeno atmosférico. Se añaden al suelo residuos orgánicos vegetales o animales que procedan de sistemas ecológicos. Y además es necesario que el suelo permanezca el cubierto de vegetación mediante cultivos intercalados o cubiertas vegetales, de esta manera se favorece una máxima fijación de energía solar en forma de biomasa vegetal (Gonzálvez y Pomares, 2008).

Gonzálvez y Pomares (2008) de la Sociedad Española de Agricultura Ecológica clasifica los fertilizantes permitidos en la agricultura ecológica en 3 grupos principales. En primer lugar están los abonos para enriquecer el suelo en humus, estos deben ser ricos en carbono y pobre en nitrógeno. En este grupo están: el estiércol, compost, residuos de cosechas entre otros; El segundo grupo comprende los abonos para suministrar nitrógeno a las planta que deben ser pobres en carbono y relativamente ricos en nitrógeno. En este grupo se incluyen desechos de mataderos, guano, purín, gallinaza y otros cuidando la procedencia de estos productos; El tercer grupo es el de los abonos verdes, y los cultivos de cobertura. Los abonos verdes comprenden cultivos de diferentes familias (leguminosas, gramíneas, crucíferas) cuya biomasa se incorpora en verde al suelo.

Existen también otros materiales que están permitidos como los llamados fertilizantes biológicos preparados con microorganismos seleccionados de diferentes tipos. Estos fertilizantes aplicados en el suelo ayudan a mejorar la riqueza o disponibilidad de nutrientes en el suelo, bien mediante la fijación biológica del nitrógeno u otros procesos bioquímicos. Para complementar el aporte de materia orgánica también son utilizados los abonos minerales de fuentes naturales, como los fosfatos naturales (rocas silíceas, cloruro potásico, la dolomita, etc.).

Los productores de cultivos ecológicos seleccionan variedades productivas que se adapten a las condiciones edafo-climáticas de la zona en la que se cultiva y que no sean susceptibles de adquirir enfermedades o padecer ataques de plagas. Generalmente estas características encuentran en los cultivos nativos más antiguos. Sin embargo para los casos en los que sea necesario el control de plagas o enfermedades, existen algunos productos fitosanitarios que son autorizados y que deberán usarse tal y como se especifica en el Anexo II-B del Reglamento (CEE) 2092/91 sobre producción agrícola ecológica, cuidando y respetando el medioambiente y la salud.

Como insecticidas podrán ser usados: azadiractina extraída de *Azadiracta indica*, gelatina, piretrinas extraídas del *Chrysanthemum cinerariaefolium*, preparados da base de *Quassia amara*, rotenona extraída de *Derris* spp, *Lonchocarpus* spp y *Terphrosia* spp, aceite de parafina. Se podrán usar microorganismo como bacterias virus y hongos que provengan de cepas no modificadas genéticamente y sustancias producidas a partir de microorganismos como Espinosad, siempre tomando las medidas necesarias para no generar parasitoides u otros riesgos. Como trampas y dispersores de insectos se podrán usar feromonas, metaldehídos y piretroides. Entre los fungicidas permitidos están: lecitina, aceites vegetales como el de menta u otros, cobre (hidróxido de cobre, sulfato de cobre tribásico, óxido cuproso), sulfuro de cal, permanganato de potasio, harina de cuarzo, azufre, cera de abejas.

1.8 FERTILIDAD DEL SUELO

Los procesos biológicos del suelo, son diversos y de gran complejidad. Las características físicas y químicas del suelo, el clima, las comunidades vegetales y las prácticas agrícolas ejercen una gran influencia en la biología del suelo de muchas maneras, con muchas influencias tanto positivas como negativas en la fertilidad del suelo.

La fertilidad del suelo es definida como la capacidad del suelo para proporcionar elementos físicos, químicos y biológicos que son requeridos por las plantas para llevar a cabo procesos vitales como su crecimiento y reproducción y para conseguir la productividad y la

calidad adecuada, de acuerdo al tipo de planta, tipo de suelo, uso de la tierra y las condiciones climáticas (Abbott y Murphy, 2003).

1.8.1 Determinación de la fertilidad del suelo

Aunque la fertilidad del suelo no puede ser medida de manera directa por un único parámetro, medir e integrar distintos parámetros biológicos, químicos y físicos de un sistema agrícola es de gran ayuda. Estas mediciones o evaluaciones proporcionan información sobre el estado funcional del suelo en un determinado momento, lo que permitirá identificar áreas de especial interés, áreas afectadas, y comparar suelos sometidos a distintos tipos de manejos (Abbott y Murphy, 2003).

Existen hoy en día algunos parámetros que son considerados como indicadores de calidad y fertilidad del suelo, entre los que se destacan los relacionados con las propiedades biológicas y bioquímicas del suelo, que se refieren a la biomasa microbiana, actividades de los microorganismos y las actividades enzimáticas, entre otros. Las propiedades biológicas y bioquímicas del suelo son las más sensibles a los cambios en el manejo del suelo, y al estrés generado por el ambiente, por lo que estudiarlas es de gran ayuda para obtener información de manera temprana frente a un posible proceso de degradación o al contrario frente a un proceso de recuperación del suelo (Guangming *et al.*, 2017; Abbott y Murphy, 2003).

Los parámetros químicos con los que se evalúa la fertilidad o calidad del suelo, pueden clasificarse en parámetros generales (o indirectos) y parámetros específicos (o directos). Los parámetros generales permiten tener una idea global de los procesos microbiológicos que suceden en el suelo, esto da una idea del estado de la calidad del suelo de manera indirecta. Entre los parámetros bioquímicos generales están: el contenido en C y N de la biomasa microbiana, la respiración del suelo, la mineralización del nitrógeno y algunas actividades enzimáticas oxidorreductasas como la deshidrogenasa y la catalasa. Por otro lado, los parámetros bioquímicos específicos son aquellos que comprenden reacciones concretas y dependen de sustratos específicos. En estos parámetros se incluyen las actividades enzimáticas hidrolasas como carbohidrasas, quitinasa, β -glucosidasa y β -

galactosidasa del ciclo del C, fosfatasa del ciclo del P, ureasa y proteasas del ciclo del N y arilsulfatasa del ciclo del S. (Nannipieri *et al.*, 1990). Una de las maneras relativamente más sencillas, fáciles y baratas para determinar la fertilidad del suelo, es estudiar su actividad enzimática.

Como ya se ha mencionado, las actividades de las enzimas del suelo juegan un papel central en los procesos bioquímicos del suelo y han sido usadas por muchos investigadores como indicadores en la evaluación del estado de suelos de distintos ecosistemas (Lino *et al.*, 2016; Araújo *et al.*, 2013; Nannipieri *et al.*, 2012) La medida de estos parámetros bioquímicos del suelo permite tener una idea de la actividad metabólica del suelo lo que es de gran ayuda para entender la funcionalidad del mismo.

Las actividades enzimáticas actúan sobre un sustrato específico y están relacionadas con reacciones específicas, así que pueden variar según el tiempo y el espacio, por lo que se hace necesario que para caracterizar el estado general de los nutrientes o para la determinación de la calidad o fertilidad del suelo, que se tomen medidas de un grupo de distintas enzimas (Shukla y Varma, 2010). La medición de una única propiedad bioquímica o biológica no es de mucha utilidad en la determinación de calidad o fertilidad del suelo.

Las enzimas del suelo están clasificadas en oxidorreductasas, transferasas, hidrolasas, liasas, isomerasas y ligasas de acuerdo con la reacción que catalizan. Las enzimas más estudiadas en el suelo son las oxidorreductasas (deshidrogenasa, catalasa, peroxidasa), las Hidrolasas (fosfatasa, sulfatasa, amilasa, celulasa, invertasa, β - y α -glucosidasas, β - y α -galactosidasa, proteinasas, asparginasa, glutaminasa, amidasa y ureasa), las Transferasas (rhodanasa) y las Liasas (glutamato descarboxilasa) (Henríquez *et al.*, 2014; Shukla y Varma, 2010). A continuación se explica el funcionamiento dos de las enzimas más utilizadas en la determinación de la fertilidad y la calidad del suelo:

Hidrolasa: Fosfatasa

Las plantas requieren la hidrólisis del fósforo orgánico a ortofosfato, para poder absorberlo, por lo que la mineralización de esta fracción orgánica es un factor importante en la nutrición de las plantas. Este proceso de mineralización es catalizado por las fosfatasa. Las

fosfatasa son un grupo de enzimas que catalizan la hidrólisis de ésteres y anhídridos de ácido fosfórico. Estas enzimas son excretadas por las raíces de las plantas y por los microorganismos. Son consideradas buenas indicadores de la fertilidad del suelo. Se encuentra en dos formas en el suelo, estas son: Las fosfatasa ácidas y alcalinas (Shukla y Varma, 2010; Mohammad *et al.*, 2010). Estas son dos enzimas inespecíficas que catalizan la hidrólisis de glicerofosfatos y se diferencian por su pH óptimo de actuación.

Para hacer más fiable los métodos usados para la determinación de la fosfatasa es necesario cuantificar la cantidad de fósforo inorgánico (Pi) liberado por la hidrólisis orgánica (Douglas *et al.*, 1976; Dick y Tabatabai, 1978). Sin embargo, se presentan algunas dificultades al momento de la cuantificación del (Pi) como:

- El Pi liberado por la acción de la enzima puede ser absorbido por los componentes del suelo impidiendo su correcta estimación.
- En el momento de la extracción del Pi el pirofosfato puede seguir siendo hidrolizado de manera no enzimática, debido a factores como el bajo pH
- La presencia del pirofosfato puede interferir con la medida del Pi.

Oxidorreductasa: Catalasa

La catalasa es una enzima intracelular presente en bacterias aerobias y en la mayoría de anaerobias facultativas. Es utilizada como un indicador de la actividad de los organismos aerobios y se ha relacionado con la fertilidad del suelo (Shukla y Varma, 2010). Actúa sobre el H₂O₂ tóxico producido por la cadena de transporte electrónico mitocondrial y en varias reacciones de oxidación e hidroxilación, de manera que evita sus efectos tóxicos sobre los organismos y lo descompone para formar oxígeno y agua (Guangming *et al.*, 2017). Depende de la concentración de oxígeno orgánico, la biomasa microbiana, los cambios en el CO₂, y se puede ver influenciada por otras enzimas del suelo (Purev *et al.*, 2014).

Uno de los problemas que hay en la determinación de la actividad catalasa en el suelo, a través de la descomposición del H₂O₂, es debida a que puede darse una catálisis no enzimática en la que entre un 5 y un 65% de la actividad total que se determina puede ser, atribuible a compuestos inorgánicos de Fe y Mn (Johnson y Temple, 1964; Beck, 1971;

Skujins, 1978). Algunos estudios han reportado que la descomposición del agua oxigenada en suelos pobres en materia orgánica, puede deberse a catalizadores minerales mientras que en suelos ricos en materia orgánica podría deberse a la actividad de los microorganismos del suelo (Baroccio, 1958).

Distintos autores han señalado la posible intervención de compuestos orgánicos como catalizadores en la descomposición del peróxido de hidrógeno (Beck, 1971) y también se ha observado que diversos compuestos producidos por las plantas como son taninos o los ácidos vanílicico, siríngico y gálico, pueden causar la inhibición de la actividad catalasa del suelo (Skujins, 1978).

2 OBJETIVOS

2. Objetivos

Los objetivos del presente estudio se han establecido pensando en la relevancia de las repercusiones que tienen las distintas prácticas agrícolas sobre la composición biológica y bioquímica del suelo (entre otros cambios), afectando su fertilidad y en consecuencia afectando el desarrollo y productividad de los cultivos. La determinación de la relación entre los procesos y/o cambios que ocurren en el suelo y las distintas variedades, es importante en la toma de decisiones sobre la elección de variedades en función del sistema de cultivo.

Utilizando una colección de accesiones de pimientos conformada por variedades de pimiento locales españolas, y otras variedades, cultivadas en condiciones de cultivo ecológico y cultivo convencional se pretende:

Determinar la fertilidad del suelo en función de la medida de las actividades enzimáticas del suelo: Fosfatasa y Catalasa

Estimar el efecto de la variedad sobre las actividades enzimáticas del suelo en ambos sistemas de cultivo convencional y ecológico.

Evaluar el efecto del sistema de cultivo (ecológico y convencional) sobre las actividades enzimáticas del suelo.

Valorar el efecto que tiene la interacción variedad×sistema de cultivo, en las actividades enzimáticas del suelo, de manera que se pueda determinar la manera en la que se ven beneficiadas o afectadas las variedades por el sistema de cultivo al que se someten.

3 MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 MATERIAL VEGETAL

El material vegetal consistió en una colección de 20 accesiones de variedades locales españolas y otras variedades de pimiento, las cuales se cultivaron paralelamente en un sistema agrícola ecológico y en un sistema agrícola convencional.

Tabla 5. Lista de accesiones empleadas en el presente estudio, la respectiva especie a la que pertenecen y su procedencia.

Accesión	Especie	Origen
<i>Capsicum annuum</i>		
Arnoia	<i>C. annuum</i>	Misión Biológica, Magebondo, Galicia, España
Disenise	<i>C. annuum</i>	Cons. Reg. Peperone Di Senise, Potenza, Italy.
Doux Long des Landes	<i>C. annuum</i>	Francia
Guernika cv. Derio	<i>C. annuum</i>	País Vasco, España.
Guindilla Ibarra	<i>C. annuum</i>	País Vasco, Spain.
Mojo Palmero	<i>C. annuum</i>	La Palma, Canarias, España
Najerano	<i>C. annuum</i>	Ramiro Arnedo seed co.. La Rioja, Spain
Numex 6-4	<i>C. annuum</i>	Nuevo México, EEUU
Numex Conquistador	<i>C. annuum</i>	Nuevo Mexico, EEUU.
Pasilla Bajío	<i>C. annuum</i>	Mexico
Pettit Marsellais	<i>C. annuum</i>	Marsella, Francia.
Pimiento de Bola	<i>C. annuum</i>	Cons Reg. D.O.P. Pimentón de Murcia, Murcia, España.
Pimiento de Padrón	<i>C. annuum</i>	Padrón, Galicia, Spain.
Pimiento del Bierzo	<i>C. annuum</i>	Cons. Reg. IGP Pimiento Asado del Bierzo. León, Spain
Piquillo de Lodosa	<i>C. annuum</i>	Cons Reg. Piquillo de Lodosa, Navarra, España
Otros <i>Capsicum</i>		
<i>C. chinense</i>		
Ají dulce	<i>C. chinense</i>	Venezuela
ECU-994	<i>C. chinense</i>	Ecuador
<i>C. baccatum</i> L.		
Bol -37R	<i>C. baccatum</i>	Chuquisaca, Bolivia
Bol - 58 (Asta de Toro)	<i>C. baccatum</i>	Cochabamba, Bolivia

3.2 CONDICIONES DE CULTIVO

En uno de los Invernaderos del COMAV, a principios de febrero, se realizó la siembra de las semillas de las distintas variedades de pimiento, en alveolos de 2x2 cm, utilizando un sustrato compuesto por un 80% de tierra enriquecida y un 20% perlita. Para este proceso se mantuvo una temperatura constante de 24°C.

El trasplante se llevó a cabo cuando las plántulas tenían entre 5-6 hojas verdaderas, a finales de mes de abril, en dos parcelas, una de producción agrícola ecológica y otra de producción agrícola convencional (Figura 8). El marco de plantación fue de 1m entre filas y 0.5m entre plantas de la misma fila. Las condiciones agroclimáticas para las dos parcelas fueron similares debido a que se encontraban en áreas cercanas.

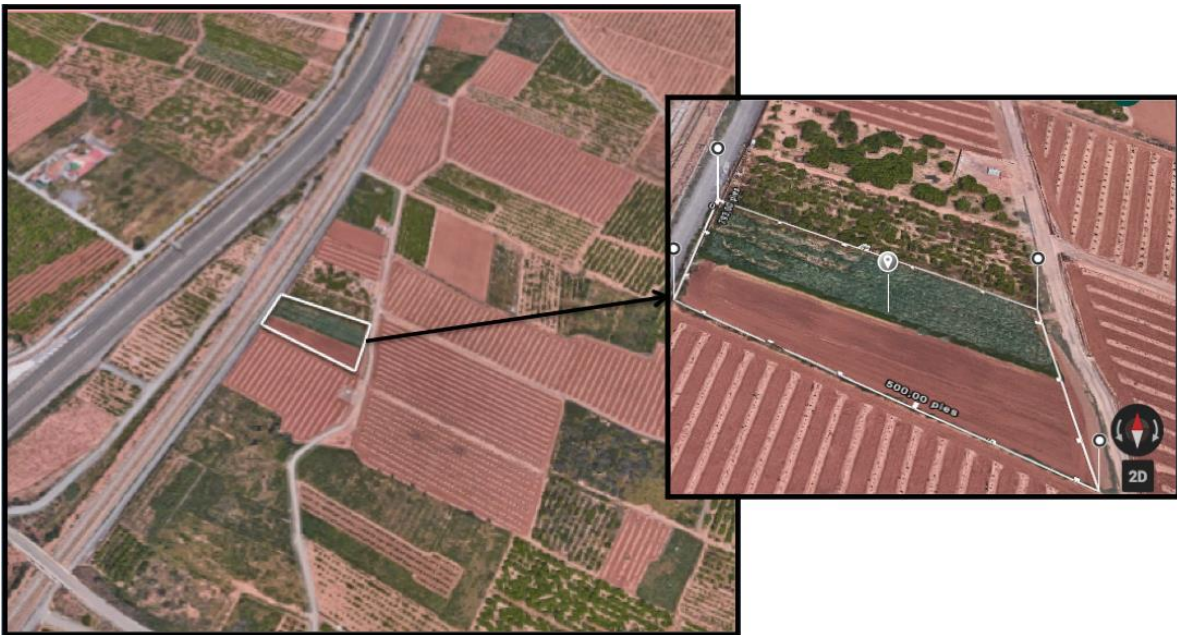


Figura 8. Localización geográfica de la parcela del cultivo convencional en el municipio de Sagunto (Valencia). Parcela (39°38'34.9"N 0°17'09.7"W) (Google maps, 2017)



Figura 9. Localización geográfica de la parcela del cultivo ecológico en el municipio de Sagunto (Valencia). Parcela (39°37'48,8"N 0°16'4,40"W (Google maps, 2017).

Para el cultivo ecológico, el abonado se basó en un estercolado a base principalmente de estiércol de oveja (en ocasiones de caballo) proveniente de cultivo ecológico, en una dosis de 4 kg/m². Los riegos se realizaron por inundación a partir de agua de pozo (de la Comunidad de regantes privada “La Providencia”). Dos riegos inmediatamente antes del trasplante y luego con una frecuencia de cada 8-10 días (según las condiciones ambientales). Durante el año del ensayo no fue necesario realizar aplicaciones externas para el control de plagas. Sin embargo se suelen usar depredadores naturales y en casos necesarios Piretrina para pulgón y *B. thuringiensis* para orugas. Durante el ciclo de cultivo se realizaron tres aplicaciones térmicas y un desbroce manual cada mes.

En el cultivo convencional el lecho de siembra fue preparado con labores mecánicas usando el rotovator. Los riegos se realizaron por inundación a partir de agua de pozo (de la Comunidad de regantes privada “La Providencia”) con una frecuencia de 5-10 días según las condiciones ambientales. Para la fertilización del campo se realizaron dos aplicaciones (en junio y en julio) de dos productos (ambos en un mismo día): el producto comercial Triple 15 que contiene 15% de nitrógeno, 15% de fósforo y 15% potasio, bajo una dosis de 25 kg/ha y el Quelato de hierro 500g/L en el agua de riego. A principios del mes de mayo se aplicó metaldehído 1kg/ha para el control de caracoles, y a principios y finales de los

meses junio y julio el campo fue tratado con clorpirifos 48% en una dosis de 2cc/L y oxiclورو de cobre 22% + Mancozeb 17% (Dosis: 4 cc/L) ambos preparados en 25 Litros de agua para tratar insectos y hongos. Además durante el ciclo de cultivo cada mes se realizaba un desbroce manual.

3.3 DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Ambas parcelas se diseñaron bajo un modelo de distribución al azar. Cada variedad en cada sistema de cultivo estaba representada por ocho plantas (mayoritariamente) distribuidas en dos bloques de cuatro plantas repartidos aleatoriamente en la subparcela correspondiente. Con este modelo se buscaba atenuar el efecto posición en cada parcela experimental y se sometía cada variedad a una influencia ambiental generalizada, distribuyendo de forma aleatoria el efecto posición. Además, se dispuso una fila de bordura con las plantas sobrantes del trasplante.

Los datos de los diferentes análisis se procesaron mediante el programa estadístico Statgraphics 5.1, para realizar el análisis de la varianza (ANOVA) de los factores principales, variedad y sistema de cultivo, así como de la interacción entre ellos y para determinar las diferencias estadísticas entre las variedades.

3.4 RECOGIDA DE MUESTRAS DE SUELO

Se colectaron muestras de suelo en las parcelas de cultivo ecológico y cultivo convencional, antes de realizar las siembras de las plantas de las distintas variedades de pimiento. A continuación en el transcurso del ciclo de cultivo se tomaron las muestras de suelo entre las plantas de cada variedad en tres momentos: a mitad del ciclo del cultivo del pimiento (aparición frutos con madurez comercial para verde), a final del ciclo (periodo de recogida final de frutos) y finalmente fueron colectadas las muestras de rizosfera de cada planta (periodo final del cultivo para levantamiento del campo). Para este último momento, la época de lluvias retrasó la fecha prevista de recogida de muestras aproximadamente un mes.

Para tomar las muestras de suelo, en primer lugar se eliminó la capa superficial más alterada del suelo y luego con una azada se retiró una porción de suelo hasta unos 15 a 25 cm de profundidad. Las muestras fueron puestas en bolsas ziploc rotuladas para su transporte y almacenamiento en el frigorífico del COMAV a 4°C.

3.5 ANÁLISIS DE ACTIVIDADES ENZIMÁTICAS: FOSFATASA ALCALINA Y CATALASA

3.5.1 Determinación de la actividad fosfatasa alcalina

Para el análisis de la actividad enzimática de la fosfatasa alcalina, se siguió el método propuesto por Tabatabai y Bermner (1969) con algunas modificaciones. El método consiste en la determinación espectrofotométrica del *p*-nitrofenol liberado cuando el suelo es incubado a 37 °C durante 1 h con una disolución tamponada (pH=11) de *p*-nitrofenilfosfato. El método colorimétrico para medir el *p*-nitrofenol liberado se basa en el hecho de que las disoluciones alcalinas de este compuesto tienen un color amarillo que se mide a una longitud de onda de 400 nm.

En erlenmeyers de 50 mL se introdujo 0,5 g de muestra de suelo, posteriormente se añadieron 0.2 mL de tolueno, 4 mL de MUB a pH 11, 1 mL de disolución de *p*-nitrofenilfosfato y se agitó por pocos segundos. Los Erlenmeyer se taparon y se pusieron en el incubador a 37 °C durante una hora. Luego de este tiempo se sacaron y la reacción enzimática fue parada añadiendo 1 mL de CaCl₂ 0.5 M y 4 mL de NaOH 0.5 M, finalmente se agitó y filtró la suspensión a través de un papel de filtro Whatman 40.

Con la muestra filtrada se midió la absorbancia en el espectrofotómetro a la longitud de onda de 400 nm. Previo a esto se preparó una curva de calibrado que consistió en realizar los patrones de 0, 1, 2, 3, 4, y 5 mg L⁻¹ de *p*-nitrofenol. Para ello, se pipeteaba el volumen necesario de la disolución standard para cada patrón y se introducían en erlenmeyers de 50 mL. El volumen tomado de la disolución standard se ajustaba a 5 mL con H₂O destilada, y a continuación se procedía como con las muestras, añadiéndoles 1mL de CaCl₂ 0.5 M y 4

mL de NaOH 0.5 M, de forma que el volumen final de los patrones de la curva era de 10 mL y por último se filtraban y se medían en el espectrofotómetro.

Se calculó el *p*-nitrofenol por referencia de la absorbancia obtenida por cada una de las muestras a la curva de calibración. Los datos obtenidos de las muestras, restado el valor promedio del blanco, se interpolan en la ecuación de la recta de calibrado y los resultados se expresan en $\mu\text{moles de } p\text{-nitrofenol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$, en donde g son gramos de suelo seco y h son horas de incubación. Para ello, se debe aplicar el siguiente algoritmo:

$$AE = \frac{C \times V}{Pm \times G \times T}$$

Donde:

AE = Actividad fosfomonoesterasa ($\mu\text{moles } p\text{-nitrofenol liberado g}^{-1} \text{ suelo seco h}^{-1}$).

C = Cantidad de *p*-nitrofenol en μg .

V = Factor de dilución, en caso de que sea necesario diluir las muestras.

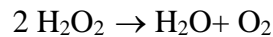
G = Factor relativo a la cantidad de suelo seco utilizada en el ensayo (en este caso, suelo seco en 0,5 g de suelo húmedo).

T = Factor relativo al tiempo de incubación (en este caso 1 h).

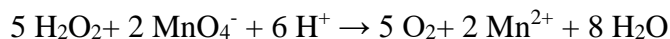
Pm = Peso molecular del *p*-nitrofenol (139).

3.5.2 Determinación de la actividad Catalasa

Para este análisis se siguió el método de Johnson y Temple (1964). Esta reacción enzimática se basa en la adición de una determinada cantidad de H_2O_2 al suelo y en la incubación de la mezcla, durante un período de tiempo determinado en el que actúa la enzima, provocando la descomposición del H_2O_2 en H_2O y O_2 según la reacción:



A continuación se mide, el H_2O_2 residual, que es el peróxido de hidrógeno que permanece inalterado después que tuvo lugar la reacción enzimática, mediante una valoración con permanganato potásico, basada en que el peróxido de hidrógeno en disolución ácida reduce al permanganato con formación de oxígeno, según la siguiente reacción:



3. Material y Método

Se pesaron 0.5 g de suelo húmedo en un erlenmeyer 50 mL y se añadieron 40 mL de agua destilada con probeta y se tapó. Luego con el agitador rotatorio y se agitaron durante 30 minutos (200-225 rpm). Transcurrido dicho periodo de tiempo se añadieron 5 mL de la disolución de H₂O₂ 1:100, se tapó y agitó de nuevo durante 10 minutos exactos. Posteriormente la reacción enzimática se detuvo y se estabilizó el peróxido de hidrógeno remanente mediante la adición de 5 mL de la disolución de H₂SO₄ 1.5 M y se filtró.

Se preparó un blanco sin suelo, pero con H₂O₂ y cuya valoración dio la referencia de la cantidad máxima de H₂O₂ que puede estar presente en las muestras, ya que la cantidad de H₂O₂ en el mismo corresponde a la cantidad de H₂O₂ inicialmente añadida a las muestras o, lo que es igual, la cantidad máxima de peróxido de hidrógeno que éstas podrían poseer como remanente al final de la incubación en caso de que la actividad catalasa fuese nula. Dicho blanco se preparó, de la misma manera, con 40 mL de agua destilada, 5 mL de H₂O₂ (1:100) y 5 mL de H₂SO₄ 1.5 M, obteniendo, así, una disolución de H₂O₂ 8.8 mM.

Finalmente para determinar el H₂O₂ residual en los extractos del suelo se tomó una alícuota de 25 mL del extracto filtrado y se valoró lentamente con la disolución de KMnO₄ 0.005 M, agitando continuamente la disolución y esperando hasta que la disolución fuera incolora antes de añadir la siguiente gota de permanganato. El punto final de la valoración lo señalaba la aparición del primer color rosado permanente.

Se calculó la concentración de H₂O₂ consumido y, por tanto, la del O₂ desprendido en la reacción enzimática, después de sustraer a las muestras el volumen gastado en la valoración de los blancos. Para determinar la actividad enzimática de la catalasa se usó la siguiente expresión:

$$AE = \frac{[BG - (S - B)] \times N \times 0.5 \times V \times T}{G}$$

Donde:

AE = Actividad catalasa (mmoles H₂O₂ consumida g⁻¹ h⁻¹).

BG = Cantidad de permanganato (en mL) gastados en la valoración del *blanco sin suelo* y *con* H₂O₂.

S = Cantidad de permanganato (en mL) gastados en la valoración de las muestras.

3. Material y Método

B = Cantidad de permanganato (en mL) gastados en la valoración del control correspondiente a cada muestra de suelo.

N = Normalidad exacta del permanganato potásico.

0.5 = Valor constante que procede del cálculo para conocer los mg de H_2O_2 que reaccionan con el permanganato [peso molecular del H_2O_2 (34) dividido por la valencia (2)] y del cálculo para obtener la cantidad de H_2O_2 en mmoles (1/peso molecular del H_2O_2).

V = Factor de dilución, en este caso sería 50 mL/25 mL.

G = Factor relativo a la cantidad de suelo seco utilizado (peso de suelo seco que hay en 0.5 g de suelo húmedo).

T = Factor de tiempo; en este caso sería 6, ya que la incubación dura 10 min.

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 ANÁLISIS DE LA VARIANZA

Los ANOVA para la actividad de la fosfatasa alcalina, en cada una de las condiciones evaluadas (fase intermedia del cultivo, fase final y rizosfera), permitieron determinar que para este experimento todos los factores evaluados contribuyeron a la variación observada en la actividad de esta enzima. Los valores de los cuadrados medios indican que el factor que contribuyó en mayor proporción en la variación de la actividad fosfatasa en las tres condiciones que se estudiaron, fue el sistema de cultivo. Los factores variedad e interacción variedad×sistema de cultivo, contribuyeron en una proporción menor a la variación de ésta actividad de la enzima (Tabla 6).

Por otro lado, los ANOVA realizados para la actividad de la catalasa, indicaron que todos los factores evaluados contribuyeron a la variación observada en la actividad de esta enzima en las condiciones evaluadas, con excepción del factor sistema de cultivo en la rizosfera. Los cuadrados medios indicaron que la variación observada en la fase intermedia y en la fase final del ciclo de cultivo, fue debido a una contribución en mayor proporción del factor sistema de cultivo. Sin embargo en la rizosfera la mayor contribución fue por parte de interacción variedad×sistema de cultivo. Los factores que contribuyeron en segunda medida a la variación de la actividad catalasa en la fecha intermedia y final, fueron la interacción variedad×sistema de cultivo y la variedad. En el caso de la rizosfera el factor que contribuyó en segunda medida fue la variedad (Tabla 7).

Lo anterior significa que en general, para el experimento realizado existen diferencias significativas entre variedades y entre sistemas de cultivo para la actividad enzimática de la fosfatasa alcalina y de la catalasa (con la única excepción mencionada anteriormente). De igual manera, el análisis arrojó que la interacción variedad×sistema de cultivo tiene un efecto significativo sobre la actividad de las enzimas, lo que indica que el sistema de cultivo puede afectar positiva o negativamente a la variedad y en consecuencia la relación de la variedad con el suelo.

Tabla 6. ANOVA para la actividad fosfatasa en las tres condiciones evaluadas: a mitad de cultivo del pimiento (intermedia), a final del cultivo (final) y en la rizosfera.

Factor	Fosfatasa intermedia		Fosfatasa final		Fosfatasa rizosfera	
	G.L	Cuadrado medio	G.L	Cuadrado medio	G.L	Cuadrado medio
Variedad (G)	19	11476***	19	2769 ***	19	3422***
Sist de Cultivo (E)	1	864609***	1	69858***	1	194576***
GxE	19	8617***	19	5884***	19	2458**
Residuo	151	673	150	625	131	987

= significativo para $p < 0.01$; *= significativo para $p < 0.001$

Tabla 7. ANOVA para la actividad Catalasa en las tres condiciones evaluadas: a mitad de cultivo de pimiento (intermedia), a final del cultivo (final) y en la rizosfera.

Factor	Catalasa intermedia		Catalasa final		Catalasa rizosfera	
	G.L ¹	Cuadrado medio	G.L	Cuadrado medio	G.L	Cuadrado medio
Variedad (G)	19	0,00065***	19	0,00086***	19	0,00020***
Sist de Cultivo (E)	1	0,01430***	1	0,01279***	1	0,00012 ^{NS}
GxE	19	0,00128***	19	0,00080***	19	0,00023***
Residuo	251	0,00013	150	0,00010	133	0,00007

G.L=Grados de libertad; **NS**=No significativo para $p < 0.05$; ***= significativo para $p < 0.001$

4.2 ACTIVIDAD DE LA FOSFATASA ALCALINA: EFECTO DE LA VARIEDAD, DEL SISTEMA DE CULTIVO Y SU INTERACCIÓN

4.2.1 Efecto de la variedad y del sistema de cultivo

Como lo indicó el ANOVA, existen diferencias significativas entre los dos sistemas de cultivo para la actividad fosfatasa en la fase intermedia del cultivo, siendo superior el valor medio del sistema convencional en un 37%. Esto se reflejó en el comportamiento de las

distintas variedades en un sistema de cultivo y en el otro. De este modo aunque hubo un gran rango de variación dentro de cada sistema de cultivo, en general los valores individuales de las variedades fueron más altos en el cultivo convencional que en el ecológico (Tabla 8), así el rango de variación de la fosfatasa en la fase intermedia en el sistema ecológico estuvo comprendido entre 200- 304 $\mu\text{moles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ correspondientes a las variedades Padrón y Piquillo, respectivamente, frente a un rango de variación de 304 - 507 $\mu\text{moles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ que corresponden a las variedades Guindilla Ibarra y Najerano de manera respectiva, en el cultivo convencional (Tabla 8). Dentro del sistema ecológico las variedades que presentaron mayores valores de actividad fosfatasa en la fase intermedia fueron Ecu994 (321 $\mu\text{moles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$), Piquillo (304 $\mu\text{moles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$), Pasilla (273 $\mu\text{moles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$), Bierzo (250 $\mu\text{moles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$) y Bola (249 $\mu\text{moles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$). En el cultivo convencional las variedades Najerano (507), Mojo palmero (475 $\mu\text{moles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$), Numex 6-4 (429 $\mu\text{moles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$), ECU 994 (427 $\mu\text{moles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$) y Bola (424 $\mu\text{moles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$) sobresalieron con los valores más altos de actividad fosfatasa en la fase intermedia (Tabla 8).

Con respecto a la fosfatasa en la fase final del cultivo, se confirma la diferencia significativa arrojada por el ANOVA entre ambos sistemas de cultivo, siendo el cultivo convencional el que presenta un valor medio mayor en un 14% por encima del cultivo ecológico. Se observó una variación en los valores para la actividad fosfatasa al final del cultivo dentro de cada sistema de cultivo, sin embargo los valores individuales de las variedades fueron en general más altos en el cultivo convencional que en el ecológico a pesar de solaparse los rangos ambos sistemas de cultivo. En ese sentido el rango de variación observado para la actividad fosfatasa en la fase final estuvo comprendido entre 196-312 $\mu\text{moles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ correspondientes a las variedades Doux Long des Landes y Arnoia respectivamente en el cultivo ecológico, y entre 243-354 $\mu\text{moles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ correspondientes a las variedades Padrón y Bol 58 respectivamente en el cultivo convencional (Tabla 8). En el sistema ecológico las variedades con valores mayores para la actividad fosfatasa en la fase final del cultivo fueron Arnoia (312 $\mu\text{moles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$), Gernika (301 $\mu\text{moles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$), Piquillo (298 $\mu\text{moles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$), Padrón (277 $\mu\text{moles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$), Ají Dulce (276 $\mu\text{moles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$). En el sistema convencional se destacaron las variedades Bol-58 (354 $\mu\text{moles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$), Disenise (329 $\mu\text{moles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$), Espelette (312 $\mu\text{moles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$), Bola (311 $\mu\text{moles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$) y Guindilla Ibarra (305 $\mu\text{moles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$) (Tabla 8).

Finalmente, de la misma manera que en los casos anteriores, para la actividad fosfatasa en la rizosfera existen diferencias significativas entre los sistemas de cultivo evaluados como lo indicó el ANOVA, siendo superior el valor medio del cultivo convencional en un 21%. De esta manera, aunque el rango de variación de la actividad fosfatasa en la rizosfera en cada sistema de cultivo fue amplio y llega a solaparse, los valores individuales de las variedades fueron en general más altos en el cultivo convencional que en el ecológico, siendo el rango de variación en el cultivo ecológico de 241-312 $\mu\text{moles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ que corresponde a las variedades Pasilla y Numex Conquistador respectivamente, y el rango para el cultivo convencional de 291-402 $\mu\text{moles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ correspondientes a las variedades Mojo Palmero y Bierzo respectivamente (Tabla 8). En el sistema ecológico las variedades con mayores valores de actividad fosfatasa en la rizosfera fueron Numex conquistador (312 $\mu\text{moles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$), Bol-58 (311 $\mu\text{moles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$), ECU 994 (303 $\mu\text{moles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$), Guindilla Ibarra (294 $\mu\text{moles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$), Bola (292 $\mu\text{moles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$), y en el sistema convencional Bierzo (402 $\mu\text{moles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$), Bol-37R (393 $\mu\text{moles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$), Bola (369 $\mu\text{moles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$), Gernika (357 $\mu\text{moles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$), Guindilla Ibarra (356 $\mu\text{moles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$) fueron las variedades con los valores más altos (Tabla 8).

4.2.2 Efecto de la interacción variedad×sistema de cultivo

Con respecto al análisis de la interacción variedad (G)×sistema de cultivo (E), se observó una respuesta variable a nivel de cada variedad, en función del sistema de cultivo empleado, confirmando que existe un efecto significativo de la interacción (G×E) sobre la actividad de la fosfatasa en la fase intermedia como fue indicado por el ANOVA. En este sentido se observó que la actividad fosfatasa en la fase intermedia de la mayoría de las variedades se ve más favorecida por el sistema convencional que por el ecológico (Tabla 8), destacándose las variedades Najerano y Mojo palmero, con un nivel de expresión en su actividad fosfatasa intermedia de más del doble con respecto al observado en el cultivo ecológico. El cambio de sistema de cultivo de convencional a ecológico supone una disminución de la actividad de la enzima en aquellas variedades. Contrario a eso, la variedad Piquillo mostró una respuesta algo similar en ambos sistemas de cultivo, lo que la ubica como una variedad estable. Lo anterior permite determinar que la interacción variedad×sistema de cultivo para la fosfatasa en la fase intermedia es de tipo magnitud ya

que el cultivo convencional en promedio y en general en casi todas las variedades presenta valores más altos que el cultivo ecológico, y además dentro del cultivo convencional algunas variedades se ven más beneficiadas por el sistema de cultivo que otras.

De igual manera, se confirmó el efecto significativo de la interacción variedad (G)×sistema de cultivo (E) sobre la actividad de la fosfatasa en la fase final del cultivo como lo había indicado el ANOVA. En este sentido se observaron dos variedades cuya actividad fosfatasa se vio un poco favorecida en el cultivo ecológico. Estas variedades fueron Arnoia y Padrón con una respuesta superior a la observada en el cultivo convencional en un 18 y un 14% respectivamente (significativo LSD 95%). Se observaron algunas variedades que expresan mayores niveles de actividad enzimática en el cultivo convencional como Najerano, Espelette, Guindilla Ibarra, que superan en más del 30% (significativo LSD 95%) a la respuesta de las variedades en el cultivo ecológico. Estas variedades mostraron una disminución de su actividad fosfatasa al final del ciclo cuando se cultivaron en el sistema ecológico. Sin embargo, en otras variedades hubo un comportamiento estable, es decir que su actividad fosfatasa en la fase final del cultivo fue similar en ambos sistemas de cultivos. Entre las variedades más estables se destacan Ají Dulce, Gernika, Piquillo, Doux Long des Landes y Pasilla, en estas variedades la influencia que ejerce un sistema de cultivo u otro no es superior al 6%. De este modo, se pudo determinar que la interacción G×E para la fosfatasa al final del ciclo de cultivo es de tipo magnitud porque casi todas las variedades en el sistema convencional presentaron valores más altos que el sistema ecológico, y además dentro del cultivo convencional las variedades se ven beneficiadas en diferentes magnitudes.

En cuanto a la interacción variedad (G)×sistema de cultivo (E) sobre la actividad de la fosfatasa en la rizosfera, se observó que hubo un efecto significativo como lo sugirió el ANOVA. De esta manera, se observó que un gran número de variedades tenían niveles más altos de actividad fosfatasa en el cultivo convencional que en el ecológico, siendo las variedades que más se beneficiaron por ser cultivadas en el sistema convencional Bol 37R, Gernika, Arnoia, Petit Marsellais, Bierzo entre otras, superando en más del 30% (significativo LSD 95%) a la respuesta de las variedades en el cultivo ecológico, de manera que el cambio de sistema de cultivo de convencional a ecológico penaliza la actividad

enzimática de aquellas variedades. Por otro lado, también hay algunas variedades de comportamiento similar en los dos sistemas de cultivos, como Numex Conquistador, Doux Long des Landes, Ecu 994, en estas variedades la influencia de los tipos sistema de cultivo sobre su actividad enzimática no es superior 12% por lo que se consideran estables. A partir de lo anterior se determinó que existe una interacción G×E de tipo magnitud para la actividad fosfatasa rizosfera, siendo que el cultivo convencional beneficia en promedio y de manera general a la mayoría de las variedades en distintas magnitudes.

La influencia de factores como la variedad y el sistema de cultivo en la actividad de las fosfatasas alcalinas en el suelo, al igual que las variaciones en los niveles de la enzima en los distintos momentos del ciclo del cultivo evidenciados en este estudio, concuerdan con un gran número de investigaciones. Rakshit *et al.*, (2015), Kumar *et al.* (2017a) sugieren que la cantidad y la composición de los exudados de raíz dependen de la especie vegetal la etapa de crecimiento y las condiciones ambientales, y en consecuencia la actividad microbiana en la rizosfera se ve altamente influenciada por las sustancias o rizodeposiciones que exudan las raíces de las plantas (Oburger *et al.*, 2014).

Por otro lado, los niveles mayores de actividad fosfatasa alcalina en el sistema convencional con respecto al ecológico observados en este estudio (Tabla 8), difieren de otras investigaciones que han sugerido una mayor actividad enzimática en sistemas agrícolas sometidos a una gran aportación mayor de materia orgánica (Guangming *et al.*, 2017). Bell *et al.* (2006) encontraron niveles más altos de actividad fosfatasa del suelo después del abonado con estiércol con respecto a la fertilización convencional, independientemente del periodo de muestreo probablemente debido a la mineralización mejorada de fósforo y que por el contrario los tratamientos con fertilizantes químicos afectaron negativamente la actividad fosfatasa alcalina. De igual manera Sinsabaugh *et al.* (2008), y Spohn y Kuzyakov (2013) reportaron un efecto negativo de la fertilización de fósforo sobre la actividad de la fosfatasa alcalina. Sin embargo como ya se ha mencionado en el presente estudio a pesar de los abonos con estiércol en el campo ecológico los niveles de la enzima se mantuvieron por debajo del campo fertilizado químicamente.

Los niveles de actividad fosfatasa alcalina menores en el cultivo ecológico con respecto al convencional (Tabla 8), podrían deberse a que el campo ha estado destinado desde hace

varios años al cultivo ecológico lo que ha generado un estado de fertilidad ideal para el cultivo, por lo que podría haber contenido reservas del fósforo lábil como resultado de la acción de los microorganismos del suelo en la degradación de la materia orgánica, lo cual llevó a que desde la fase inicial del experimento la actividad fosfatasa alcalina no fuera muy alta, y que después del estercolado y de la siembra, las plantas de pimiento realizaran la actividad radicular en un nivel suficiente como para mantener la fertilidad y reponer el fósforo gastado en el proceso de desarrollo. Zamora *et al.* (2005), Olander y Vitousek (2000), Sinsabaugh *et al.* (2008), sugieren que la actividad fosfatasa está generalmente correlacionada negativamente con la disponibilidad de P, de manera que la baja actividad de la enzima fosfatasa puede ser atribuida a contenidos altos de fósforo inorgánico en los suelos, que pueden inhibir los mecanismos de acción de la enzima al existir una mayor disponibilidad de nutrientes en forma lábil en el suelo. Por otro lado Singh y Walker (2006), sugieren que bajo condiciones de deficiencia de fósforo, tanto las plantas como los microorganismos pueden liberar enzimas fosfatasas en el suelo que tienen el potencial de mineralizar parte del fósforo reservado en el suelo.

En el campo convencional, desde el momento inicial del experimento hubo una mayor actividad fosfatasa alcalina que en el campo ecológico (Figura 10), lo que podría indicar según la información anterior, una deficiencia de fósforo inorgánico en el suelo. Sin embargo, a pesar de la aportación del fertilizante inorgánico al cultivo en la fase intermedia, se siguieron observando valores mayores de actividad fosfatasa alcalina en el cultivo convencional.

Por otro lado, sobre la base de Burns (1978), quien sugirió que uno de los principales problemas de estudiar las enzimas del suelo es que pueden darse interferencias de elementos o compuestos presentes en el suelo, se puede decir que el anterior resultado podría deberse a una alteración en la actividad de fosfatasa alcalina por el uso del insecticida Clorpirifos el cual ha sido reportado como estimulante o inhibidor de algunas actividades enzimáticas (fosfatasa y catalasa) del suelo según las concentraciones en las que se aplican. En el presente experimento el insecticida fue aplicado en una dosis de 2cc/L en 4 ocasiones al cultivo convencional y la última aplicación fue unos días antes del segundo muestreo (fase intermedia del cultivo). Según Giesy *et al.* (1999) Clorpirifos es un producto

bastante estable en suelos y su vida media está en el intervalo de 7-120 días, pero esto puede variar dependiendo del tipo de suelo, el clima y otras condiciones. Sus rutas de descomposición más importantes son la hidrólisis y la oxidación, las cuales dependen del tipo de suelo. La hidrólisis puede ser química o enzimática, esta última se produce por intermedio de la enzima fosfatasa, siendo el 3,5, 6- triclopiridinol el producto principal. Además Singh y Walker (2006) observaron que la tasa de degradación de este insecticida aumentaba considerablemente con un incremento del pH del suelo, es decir en suelos alcalinos. Según Neidhardt *et al.* (1996), la enzima final en la vía degradativa del insecticida postulada es la fosfatasa alcalina, que puede hidrolizar fosfatos de monoalquilo simples.

Srinivasulu *et al.* (2012), observaron que la actividad de la fosfatasa del suelo se incrementó con la aplicación de bajas concentraciones (<7,5 kg/ha) de clorpirifos tanto de manera individual como en combinación con otro pesticida. La actividad de la enzima comenzó a disminuir gradualmente después de 30 - 40 días de aplicación. Pero con la aplicación de dosis más altas (7,5-10 kg/ha), el insecticida inhibió la actividad fosfatasa. Por otro lado, Fernández *et al.*, 2013, Zabaloy *et al.*, 2010; sugieren que aplicaciones frecuentes de un determinado plaguicida en proporciones recomendadas, constituyen una presión selectiva que favorece la adaptación de una fracción de la biota del suelo que lo degrada rápidamente. Sin embargo, la capacidad de degradación intrínseca de un suelo, puede verse superada por el uso excesivo o repetido de los plaguicidas (Singh y Walker, 2006). En base a esta información se puede inferir que el uso de Clorpirifos en bajas dosis unos días antes del segundo muestreo en el campo de cultivo convencional pudo generar un incremento extra de la actividad fosfatasa alcalina del suelo como consecuencia del proceso protector de los microorganismos adaptados del suelo y por la reacción metabólica de defensa de las plantas, en su intento por degradar al Clorpirifos. El insecticida al tener un periodo de degradación de hasta 120 días aproximadamente, alcanzó a alterar la actividad de la enzima en todas las etapas siguientes después de su aplicación, hasta el levantamiento del cultivo.

Tabla 8. Valores medios en μmoles de *p*-nitrofenol liberado g^{-1} suelo seco h^{-1} para la actividad fosfatasa a mitad de cultivo (intermedia), final de cultivo (final) y en rizosfera en dos tipos de sistemas agrícola: ecológico y convencional.

Variedad	Fosfatasa intermedia		Fosfatasa final		Fosfatasa rizosfera	
	Ecológico	Convencional	Ecológico	Convencional	Ecológico	Convencional
<i>C. annuum</i>						
Arnoia	210 abc ¹	316 ab	312 i	264 abc	238 a	342 bcd
Bierzo	250 ef	382 f	252 efg	299 efgh	282 defgh	402 f
Bola	249 def	424 g	220 abcde	311 ghi	292 efgh	369 def
Disenise	221 abcde	347 bcde	236 bcdef	329 i	270 abcdefg	353 cde
Doux Long des Landes	233 bcde	330 abc	259 efg	266 abcd	288 defgh	316 abcd
Espelette	207 abc	320 ab	209 ab	312 hi	279 cdefgh	343 bcd
Gernika	219 abcde	336 abcd	301 hi	292 defgh	241 ab	357 de
Guindilla Ibarra	195 a	304 a	215 abcd	305 eghi	294 fgh	356 de
Mojo Palmero	217 abcd	476 h	234 bcdef	246 ab	246 abc	291 a
Najerano	230 bcde	507 h	196 a	298 efgh	265 abcdef	344 abcdef
Numex 6-4	235 cde	429 g	238 bcdef	284 bcdef	276 bcdefgh	352 cde
Numex Conquistador	227 abcde	367 def	261 fg	276 cdef	312 h	301 ab
Padrón	200 ab	375 ef	277 ghi	243 a	252 abcd	320 abcd
Pasilla	273 fg	324 abc	248 cdefg	260 abc	241 ab	340 bcd
Petit Marsellais	208 abcde	366 def	200 abc	283 bcdef	243 abcdef	347 abcdef
Piquillo	304 gh	337 abcd	298 hi	283 bcdef	257 abcde	307 abc
Otras <i>Capsicum</i>						
<i>C. chinense</i>						
Ají Dulce	196 a	359 cdef	276 gh	275 bcdef	261 abcdef	316 abcd
Ecu 994	321 h	427 g	224 abcde	292 cdefgh	303 gh	344 bcde
<i>C. baccatum</i>						
Bol 37 R	234 cde	316 ab	254 efg	268 abcde	259 abcdef	393 ef
Bol 58	246 def	366 def	250 cdefg	354 j	311 h	356 de
Media total	234 A²	370 B	248 A	287 B	271 A	342 B

1=Valores medios con letras distintas son significativamente diferentes para la Prueba de Rangos múltiples por LSD con un p-valor < a 0,05.

2=Valores medios de cada sistemas de cultivo con letras distintas son significativamente diferentes Prueba de Rangos múltiples por LSD con un p-valor < a 0,05.

4.2.3 Evolución de la actividad fosfatasa en los distintos momentos y puntos de muestreo

El comportamiento general de la actividad fosfatasa alcalina en ambos sistemas de cultivo durante todo el experimento, puede observarse en la figura 10. En esta se reitera que en general hay una mayor actividad de ésta enzima en el sistema convencional que en el ecológico (Figura 10). De esta manera, al realizar el análisis de los incrementos en la actividad fosfatasa desde el inicio hasta el final del estudio, reflejó que en el sistema convencional la actividad fosfatasa tuvo un incremento del 58% en la fase intermedia del cultivo, con respecto a la fase inicial, un incremento de 23% en la fase final y un incremento de 47% en la rizosfera. Por su parte, en el sistema ecológico los incrementos fueron menores, observando un 13% en la fase intermedia del cultivo, un 20% en la fase final y un 30% en la rizosfera, todo con respecto a la fase inicial del experimento.

- Cultivo Ecológico

Al analizar la evolución de la actividad fosfatasa, en los momentos y puntos de muestreo desde el punto de vista de las variedades, en el cultivo ecológico se observó una gran variación en los niveles de la actividad de la enzima en cada variedad al pasar de un momento de evaluación a otro (Figura 11). A mitad del ciclo de cultivo la fosfatasa evaluada en muestras de suelo entre plantas de cada variedad, mostró una tendencia al aumento de su actividad, comparada con la actividad fosfatasa en la fase intermedia en el momento inicial del experimento (Figuras 10 y 11). Las variedades como ECU 994, Piquillo, Pasilla y Bierzo sobresalieron con una actividad enzimática claramente mayor a las otras variedades, y variedades como Guindilla Ibarra, Ají dulce y Padrón se fueron levemente por debajo de la media de la fosfatasa inicial (Figura 11).

Posteriormente, al final del ciclo de cultivo la tendencia marcada por la respuesta de las variedades en cuanto su actividad fosfatasa no fue muy clara (Figura 11). A pesar de esto, hubo un mayor número de variedades que aumentaron sus valores de actividad fosfatasa, con respecto a la fase intermedia del cultivo (Figura 11). Las variedades que más sobresalieron fueron Arnoia y Gernika, por el aumento marcado de su actividad fosfatasa final. Sin embargo, las variedades ECU 994 y Pasilla que en el momento intermedio habían

sobresalido por su alto nivel de actividad, al pasar al momento final disminuyeron notoriamente (Figura). Las otras variedades que mostraron una tendencia a la baja de los niveles de su actividad fosfatasa final fueron Pasilla, Bola Najerano y Petit Marsellais (Figura 11).

Finalmente en la rizosfera se observó una tendencia general al aumento de la actividad fosfatasa con respecto a la fosfatasa de la fase final, con algunas excepciones como las variedades Arnoia, Gernika, Padrón y Piquillo disminuyeron su actividad fosfatasa en la rizosfera (Figura 11).

- Cultivo Convencional

El análisis de la evolución de la fosfatasa en los momentos de muestreo y puntos de muestreo en el cultivo convencional, evidenció al igual que en el cultivo ecológico, la variación de cada variedad al pasar de un momento de evaluación a otro. Sin embargo, se observa la tendencia marcada por el conjunto de las variedades en cada momento y punto de muestreo del experimento (Figura 12). La actividad fosfatasa del suelo fue en general mayor en los momentos posteriores al establecimiento del cultivo de las variedades de pimiento (Figura 10). De esta manera, a mitad del ciclo del cultivo, se observó una tendencia clara al aumento de la actividad fosfatasa, con respecto a la fosfatasa inicial y fosfatasa final y la rizosfera (Figura 10 y 12), sobresaliendo las variedades Najerano, Mojo palmero, Numex 6-4, Ecu 994 y Bola (Figura 12).

En el momento final, hubo una tendencia general de las variedades a la disminución de la actividad fosfatasa con respecto a la fase intermedia del cultivo. Sin embargo los valores de la actividad enzimática se mantuvieron por encima de la actividad fosfatasa al inicio del cultivo (Figuras 10 y 12). Las variedades Bol 58 y Gernika presentaron un nivel de actividad fosfatasa por encima de las otras variedades en esta fase del cultivo (Figura 12).

Además, en la rizosfera los valores de la actividad fosfatasa de las variedades en general tendieron a aumentar con respecto a la actividad de la fosfatasa final. La variedad Bol 58 se destacó por su comportamiento más o menos similar en los tres momentos de evaluación del experimento (Figura 12).

El aumento de la actividad fosfatasa en la rizosfera, se puede explicar por las rizodeposiciones o exudaciones de las raíces que ocurren directamente ahí. Además, según Razavi *et al.* (2016), Jones *et al.* (2009) y Marinari *et al.* (2014), también coinciden en que una mayor actividad enzimática en la rizosfera con respecto al suelo libre de raíces, se debe tanto a la actividad microbiana como también a la liberación directa de enzimas por las raíces o por lisis de las células de las raíces

Por otro lado, el aumento notable de la actividad fosfatasa en la fase intermedia del cultivo en el sistema convencional, puede estar relacionado con la alteración (estimulo) de la actividad fosfatasa a causa de la aplicación del insecticida clorpirifos, ya que esta fase coincide con la última aplicación del insecticida, es decir que en el momento del muestreo los microorganismos del suelo estarían tratando de degradarlo por lo que encontró una mayor actividad fosfatasa.

Luego, en la fase final del ciclo de cultivo en el sistema convencional, el progreso en la degradación del insecticida clorpirifos por parte de los microorganismos del suelo, podría explicar la disminución de la actividad fosfatasa observada en esta etapa (Figuras 10 y 12), ya que como se ha mencionado anteriormente, el insecticida tiene un periodo de degradación de hasta 120 (Giesy *et al.* (1999)

Finalmente, en ambos sistemas de cultivo evaluados a pesar de haberse estudiado la actividad fosfatasa del suelo libre de raíces y de la rizosfera en el mismo momento al final del ciclo del cultivo, mostraron distintos niveles de actividad fosfatasa alcalina, siendo mayores en la rizosfera (Figuras 10). Esto se deben a que la rizosfera es la zona más dinámica del suelo, donde las raíces liberan directamente una multitud de compuestos (entre esos las enzimas) y exudados que son una fuente de carbono, derivados de la fotosíntesis y otros procesos vegetales, fácilmente disponible para microorganismos, convirtiendo la rizosfera en un hotspot de abundancia y actividad microbiana y aumentando la interacción planta-suelo Oburger *et al.*, 2014; Meena *et al.*, 2014; Kumar *et al.*, 2017a).

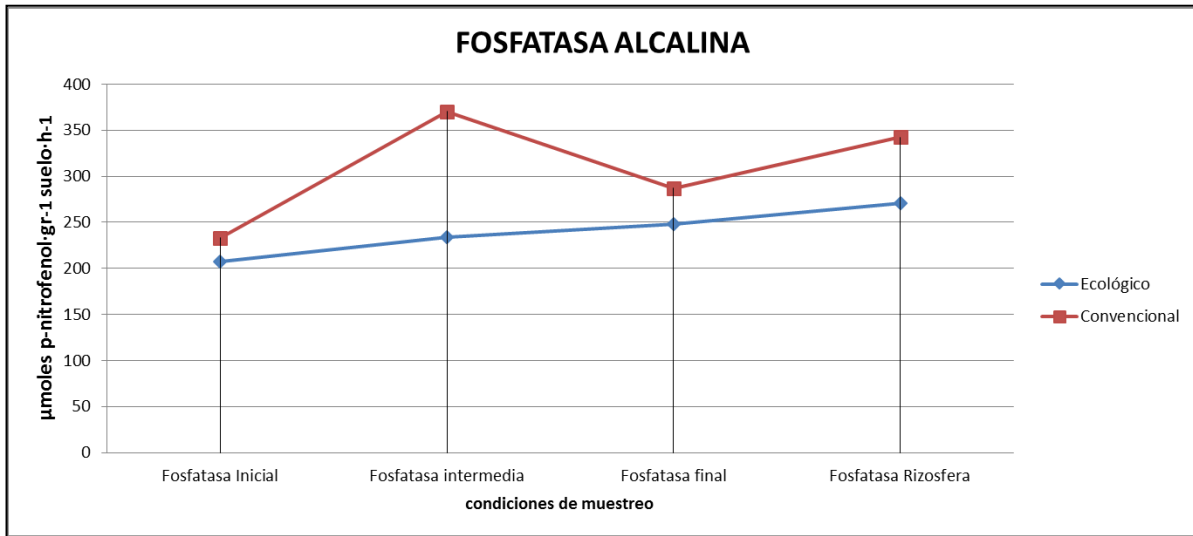


Figura 10. Comparación general de los sistemas de cultivo con respecto a la actividad fosfatasa alcalina al inicio del cultivo, a mitad de cultivo, a final de cultivo y en la rizosfera.

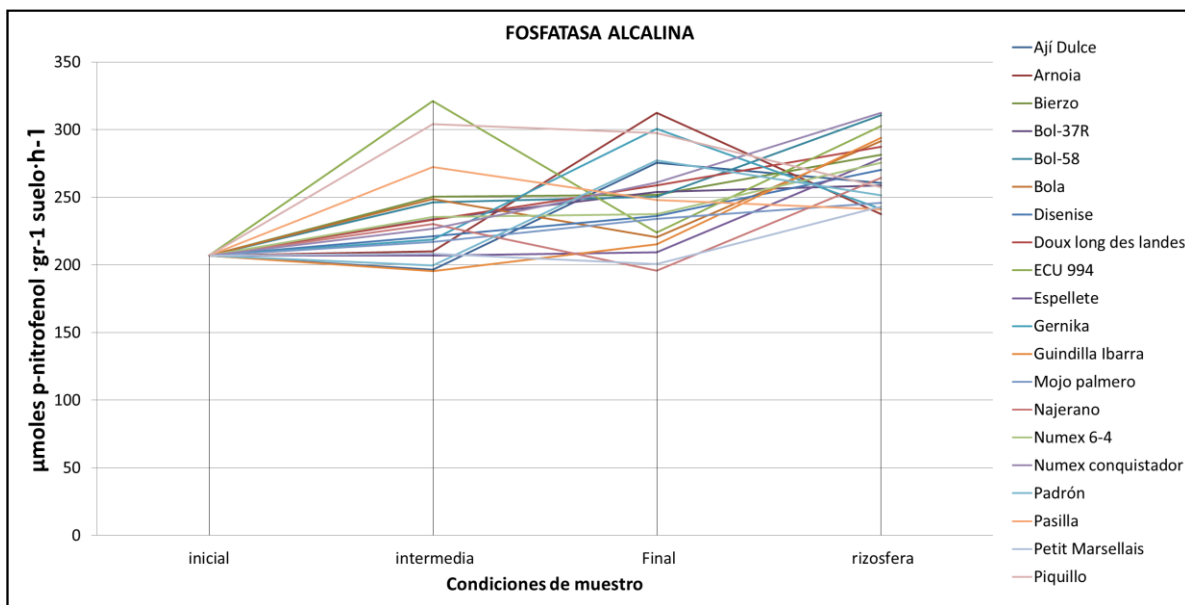


Figura 11. Secuencia de las variedades estudiadas en función de la actividad fosfatasa, al inicio, a mitad, a final del ciclo de cultivo y en la rizosfera en el cultivo ecológico.

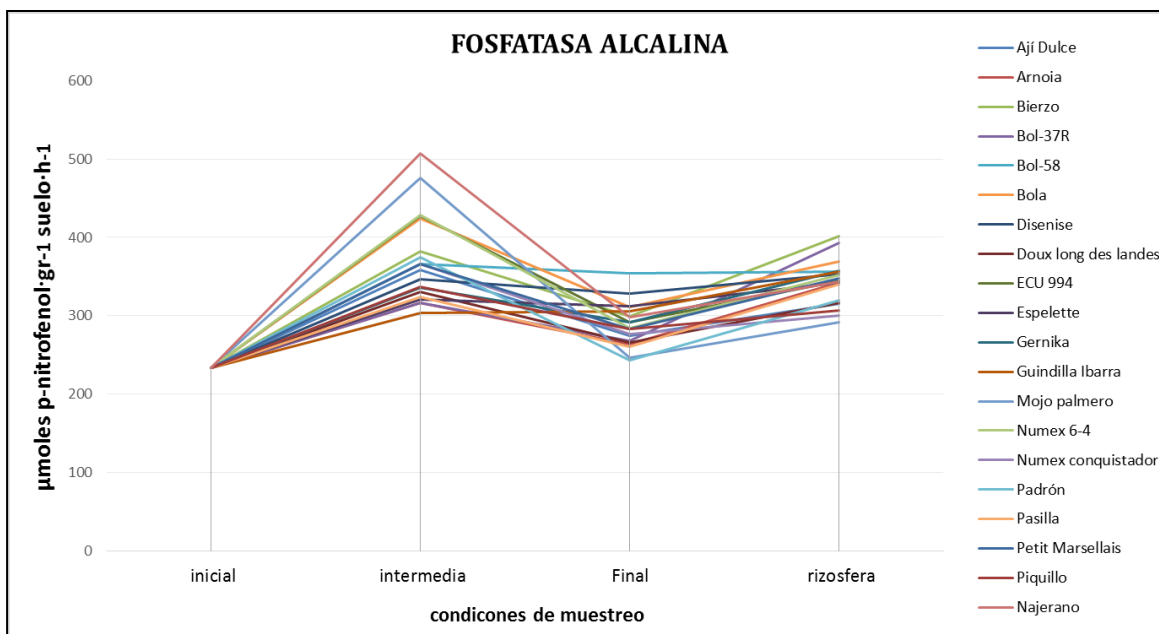


Figura 12. Secuencia de las variedades estudiadas en función de la actividad fosfatasa, al inicio, a mitad, a final del ciclo de cultivo y en la rizosfera en el cultivo convencional

4.3 ACTIVIDAD CATALASA: EFECTO DE LA VARIEDAD, DEL SISTEMA DE CULTIVO Y SU INTERACCIÓN

4.3.1 Efecto de la variedad y del sistema de cultivo

Como lo indicó el ANOVA, existen diferencias significativas entre los dos sistemas de cultivo para la actividad catalasa, siendo superior el valor medio del sistema convencional en un 21% en la fase intermedia del cultivo, con respecto al sistema ecológico. Esto fue evidente en la manera como se comportaron las distintas variedades en un sistema de cultivo y en el otro. En este sentido, aunque el rango de variación dentro de cada sistema de cultivo fue amplio, en general los valores individuales de las variedades fueron más altos en el cultivo convencional que en el ecológico (Tabla 9), así el nivel de actividad de la catalasa en la fase intermedia del cultivo en el sistema ecológico osciló entre 0,037 - 0,078 $\text{mmoles} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ correspondientes a las variedades Pasilla y Numex Conquistador respectivamente, frente a un rango de variación de 0,055 - 0,113 $\text{mmoles} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ que corresponden a las variedades Bierzo y Guindilla Ibarra de manera respectiva en el cultivo

convencional (Tabla 9). Dentro del sistema ecológico las variedades que presentaron mayores valores de actividad catalasa en la fase intermedia del cultivo fueron Numex conquistador ($0,078 \text{ mmoles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$), Mojo palmero ($0,077 \text{ mmoles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$), Bol-37R ($0,077 \text{ mmoles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$) y Gernika ($0,077 \text{ mmoles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$). En el cultivo convencional las variedades Guindilla Ibarra ($0,113 \text{ mmoles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$), Piquillo ($0,108 \text{ mmoles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$), Pasilla ($0,106 \text{ mmoles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$), Espellete ($0,097 \text{ mmoles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$), Bol-37R ($0,093 \text{ mmoles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$) sobresalieron, con los valores más altos de actividad catalasa para la fase intermedia (Tabla 9).

Por otro lado, se confirmó la diferencia significativa arrojada por el ANOVA entre ambos sistemas de cultivo con respecto a la catalasa al final del ciclo de cultivo, siendo el sistema convencional el que presenta un valor medio mayor en un 20% por encima del cultivo ecológico. Los valores para la actividad catalasa al final del cultivo variaron dentro de cada tipo de cultivo, siendo en general los valores individuales de las variedades más altos en el cultivo convencional que en el ecológico (Tabla 9), a pesar de solaparse los rangos de ambos tipos de cultivo. De esta manera se observó un rango de variación para la catalasa al final del cultivo que estuvo comprendido entre $0,052\text{-}0,090 \text{ mmoles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ correspondientes a las variedades Guindilla Ibarra y Ají Dulce respectivamente en el cultivo ecológico y entre $0,070\text{-}0,097 \text{ mmoles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ correspondientes a las variedades Ají Dulce y Piquillo respectivamente en el cultivo convencional (Tabla 9). En el sistema ecológico las variedades con valores mayores para la actividad catalasa en la fase final del cultivo fueron Ají Dulce ($0,090 \text{ mmoles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$), Pasilla ($0,089 \text{ mmoles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$), Numex conquistador ($0,086 \text{ mmoles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$), Gernika ($0,084 \text{ mmoles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$), Padrón ($0,084 \text{ mmoles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$) y Arnoia ($0,084 \text{ mmoles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$). En el cultivo convencional se destacaron las variedades Piquillo ($0,097 \text{ mmoles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$), ECU 994 ($0,091 \text{ mmoles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$), Bol-37R ($0,091 \text{ mmoles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$), Bola ($0,090 \text{ mmoles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$), Petit Marsellais ($0,090 \text{ mmoles}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$) (Tabla 9).

Finalmente, para la actividad catalasa en la rizosfera se confirmó que no existen diferencias significativas entre los sistemas de cultivo evaluados como lo había sugerido el ANOVA, siendo similares los valores medios del cultivo ecológico y el cultivo convencional. Sin embargo como también lo indicó el ANOVA sí existen diferencias significativas entre las variedades. En este sentido el rango de variación en el cultivo ecológico fue de $0,069\text{-}0,089$

mmoles·g¹·h⁻¹) que corresponde a las variedades Guindilla Ibarra y Bola respectivamente y el rango para el cultivo convencional fue de 0,069-0,097 mmoles·g¹·h⁻¹) correspondientes a las variedades Ají Dulce y Numex conquistador respectivamente (Tabla 9). En el sistema ecológico las variedades con mayores valores de actividad catalasa en la rizosfera fueron Bol-58 (0,089 mmoles·g¹·h⁻¹), Padrón (0,089 mmoles·g¹·h⁻¹), Bola (0,089 mmoles·g¹·h⁻¹), ECU 994 (0,085 mmoles·g¹·h⁻¹), Najerano (0,084 mmoles·g¹·h⁻¹), Gernika (0,084 mmoles·g¹·h⁻¹) y en el sistema convencional Numex Conquistador (0,097), Najerano (0,093 mmoles·g¹·h⁻¹), Mojo palmero (0,092 mmoles·g¹·h⁻¹), ECU 994 (0,092 mmoles·g¹·h⁻¹), Piquillo (0,090 mmoles·g¹·h⁻¹) fueron las variedades con los valores más altos (Tabla 9).

4.3.2 Efecto de la interacción variedad×sistema de cultivo

Al analizar la interacción variedad (G)×sistema de cultivo (E), en algunas variedades se observó una respuesta variable, en función del sistema de cultivo empleado, confirmando que existe un efecto significativo de la interacción (G×E) sobre la actividad de la catalasa en la fase intermedia del cultivo como fue indicado por el ANOVA. En este sentido se observó que la mayoría de las variedades tienen mayores niveles de actividad catalasa de la fase intermedia en el cultivo convencional que en el ecológico (Tabla 9). Sin embargo, al analizar los ratios, un gran número de variedades presentaron un comportamiento estable en ambos sistemas de cultivos. Así, entre las variedades cuya actividad enzimática fue mayor al ser cultivadas en el sistema convencional estuvieron Pasilla, Piquillo, ECU 994, Doux Long des Landes, Guindilla Ibarra, Petit Marsellais, Espellete, las cuales presentaron una respuesta significativamente superior (LSD 95%) en un 65%-24% con respecto al sistema ecológico. De igual manera, se observó que la variedad Bierzo se vio beneficiada al ser cultivada en el sistema ecológico, con niveles de actividad catalasa de un 31% por encima de la respuesta en el cultivo convencional de manera significativa (LSD 95%). Entre aquellas variedades que no mostraron ninguna penalización o beneficio por ser cultivadas en un sistema de cultivo o en otro, es decir, entre las variedades estables en ambos cultivos estuvieron, Mojo palmero, Bola, Numex conquistador, Padrón, Numex 6-4 y Najerano, cuya actividad enzimática no se vio modificada en más de un 12% al cultivarse en un sistema de cultivo y en otro. Se puede decir que se trata de una interacción variedad×sistema de cultivo para la catalasa intermedia es de tipo cruzada, ya que se

encontró una variedad con una expresión mayor en el cultivo ecológico que en el convencional, y algunas variedades con una expresión en el cultivo convencional que en el ecológico.

Se confirmó el efecto significativo de la interacción variedad (G)×sistema de cultivo (E) sobre la actividad de la catalasa de la fase final del cultivo como lo había indicado el ANOVA. De este modo, aunque se observó que la mayoría de las variedades tienen mayores niveles de actividad catalasa final en el cultivo convencional que en el ecológico (Tabla 9), también hubo dos variedades con mayor respuesta en el cultivo ecológico con respecto al convencional y variedades estables en ambos sistemas de cultivo. En este sentido, las variedades que se vieron beneficiadas significativamente (LSD 95%) por el sistema ecológico fueron Ají Dulce con un 29% y Pasilla con un 24% por encima del cultivo convencional con respecto al ecológico. Por el contrario, hubo algunas variedades que mostraron mayores beneficios por ser cultivadas en el sistema convencional, entre éstas están Piquillo, Bierzo, Guindilla Ibarra, ECU 994, Doux Long des Landes, Najerano, Petit Marsellais, Mojo palmero, superando la respuesta enzimática del cultivo ecológico en un porcentaje de 49-34 significativo (LSD 95%). Estas variedades mostraron una disminución de su actividad catalasa final cuando se cultivaron en el sistema ecológico con respecto al sistema convencional. Por otro lado, se observó un comportamiento estable en algunas variedades como Padrón, Numex conquistador, Gernika, Numex 6-4, y Bol-37R, en los cuales, el tipo de sistema en el que se cultivaron no generó diferencias significativamente mayores a 17%. Lo anterior permite determinar una interacción variedad×sistema de cultivo de tipo cruzada para la catalasa de la fase final evidenciada por la presencia de unas variedades con una expresión mayor en el cultivo ecológico que en el convencional, y variedades con una expresión en el cultivo convencional que en el ecológico (Tabla 9).

En cuanto a la interacción variedad (G)×sistema de cultivo (E) sobre la actividad de la catalasa en la rizosfera, aunque se observó que la mayoría de las variedades presentaron un comportamiento similar o estable en ambos sistemas de cultivo, hubo también variedades con mayor expresión de la actividad catalasa en el cultivo ecológico con respecto al convencional y viceversa (Tabla 9). En este sentido únicamente la variedad Bierzo se vio favorecida por el cultivo ecológico en un 18% (significativo LSD 95%) por encima del

cultivo convencional. Por otro lado, algunas de las variedades que se vieron beneficiadas por el sistema de convencional fueron Numex Conquistador y Numex 6-4 por encima del sistema ecológico en un 26% y 19% (significativo LSD 95%) respectivamente. Finalmente entre las variedades más estables se destacaron por un lado, Pasilla, la cual tuvo la misma respuesta enzimática en los dos tipos de cultivo, y por otro lado las variedades Ají Dulce, Gernika, Bol 37R entre otros, con una respuesta muy similar en ambos sistemas. Teniendo en cuenta lo expresado anteriormente, la mayoría de las variedades no mostraron interacción con los sistemas de cultivo, las variedades antes mencionadas con mejor comportamiento en el cultivo ecológico que en el convencional y viceversa fueron las responsables de generar la interacción significativa arrojada por el ANOVA, que fue determinada como una interacción cruzada por todo lo que se explicó anteriormente.

La influencia del genotipo y del sistema de cultivo (ambiente) en la actividad catalasa (en la fase intermedia y final del cultivo) coincide con otros estudios (Rakshit *et al.*, 2015, Kumar *et al.*, 2017a). Las diferencias entre los sistemas de cultivo en los niveles de la actividad catalasa de las variedades en el momento intermedio y el momento final del cultivo fueron observadas después de la siembra y de la aportación de los tratamiento para la fertilización y el manejo de plagas en ambos tipos de sistemas agrícolas. Las diferencias encontradas se debieron a niveles mayores de actividad catalasa en el sistema convencional con respecto al ecológico. Lo cual se contrapone a lo que se esperaba, ya que la fertilización con estercolado aumenta la materia orgánica del suelo lo que beneficia la formación y desarrollo de comunidades de microorganismos y estimula la actividad biológica del suelo.

Una mayor actividad catalasa en el sistema convencional con respecto al ecológico, puede haberse causado por el efecto del insecticida Clorpirifos aplicado en la parcela de cultivo convencional, el cual al igual que como ocurrió con la actividad fosfatasa alcalina, pudo haber generado un estímulo de la actividad catalasa en el cultivo convencional. De acuerdo con el estudio de Shiyin *et al.* (2004) el suelo puede tener lugar un gran cambio en una etapa temprana cuando los pesticidas entran en el suelo por la práctica agrícola. Ellos observaron que en muestras de suelos a los que aplicaron clorpirifos en altos niveles e incubaron por un día, hubo una inhibición de la actividad catalasa en el suelo, y lo atribuyeron a la formación de nuevos compuestos tóxicos productos de la hidrólisis de

clorpirifos y sus hidrolizados que fueron más activos que el mismo clorpirifos. Sin embargo, después del primer día de incubación la aplicación del clorpirifos estimuló la actividad catalasa del suelo, siendo máxima la estimulación de la actividad de la enzima a los 15 días de su aplicación y aumentaba con concentraciones mayores de clorpirifos. Explican que la actividad catalasa incrementó cuando la materia orgánica del suelo estimuló la síntesis de la enzima para la hidrólisis del pesticida, indicando con esto la existencia de una respuesta adaptativa de las comunidades microbianas a la presión de aplicaciones sucesivas del insecticida. Los autores observaron además que con la degradación del insecticida, disminuyó el estímulo, y la actividad catalasa del suelo se recuperó a los niveles normales del suelo control. Sin embargo, explican que desde el punto eco-toxicológico, es evidente que una mayor concentración de clorpirifos puede alterar el medio ambiente del suelo y afecta el crecimiento de la planta al acumularse en el suelo gran parte de los productos de la hidrólisis del pesticida.

Tabla 9. Valores medios en mmoles H₂O₂ consumidos g¹h⁻¹ para la actividad catalasa a mitad de cultivo, final de cultivo y en rizosfera en dos tipos de sistemas agrícola: ecológico y convencional.

Variedad	Catalasa intermedia		Catalasa final		Catalasa rizosfera	
	Ecológico	Convencional	Ecológico	Convencional	Ecológico	Convencional
<i>C. annuum</i>						
Arnoia	0,073 de	0,087 fghi	0,084 h	0,072 a	0,080 def	0,074 ab
Bierzo	0,072 de	0,055 a	0,048 abc	0,077 abc	0,083 efg	0,070 a
Bola	0,068 de	0,068 abc	0,071 fg	0,090 cdef	0,089 g	0,079 abc
Disenise	0,072 de	0,086 dfghi	0,053 bcde	0,074 ab	0,080 def	0,073 a
Doux long des landes	0,054 bc	0,086 dfghi	0,049 abcd	0,083 abcde	0,078 bcdef	0,072 a
Espellete	0,074 de	0,097 ijk	0,056 cde	0,079 abcde	0,079 cdef	0,087 bcde
Gernika	0,077 de	0,089 fghi	0,084 h	0,087 bcdef	0,084 fg	0,079 abcd
Guindilla Ibarra	0,074 de	0,113 k	0,052 bcd	0,084 abcdef	0,069 a	0,077 abc
Mojo palmero	0,077 de	0,074 bcde	0,038 a	0,074 ab	0,080 def	0,092 de
Najerano	0,068 de	0,077 bcdef	0,044 ab	0,076 abcd	0,084 fg	0,093 cde
Numex 6-4	0,066 cde	0,071 abcd	0,080 gh	0,087 bcdef	0,072 ab	0,089 cde
Numex conquistador	0,078 e	0,079 cdefg	0,086 h	0,087 bcdef	0,072 abc	0,097 e
Padrón	0,071 de	0,073 bcde	0,084 h	0,082 abcde	0,089 g	0,080 abcd
Pasilla	0,037 a	0,106 jk	0,089 h	0,072 a	0,077 bcde	0,077 abc
Petit Marsellais	0,060 cd	0,091 ghij	0,048 abcde	0,090 bcdef	0,072abcde	0,084 abcde
Piquillo	0,040 a	0,108 jk	0,064 ef	0,097 f	0,082 def	0,090 cde
Otras <i>Capsicum</i>						
<i>C. chinense</i>						
Ají Dulce	0,074 de	0,060 ab	0,090 h	0,070 a	0,073 abc	0,069 a
ECU 994	0,042 ab	0,077 bcdef	0,056 cde	0,091 def	0,085 fg	0,092 cde
<i>C. baccatum</i>						
Bol-37R	0,077 de	0,093 hij	0,079 gh	0,091 ef	0,075 abcd	0,077 abc
Bol-58	0,073 de	0,086 dfghi	0,060 def	0,085 abcdef	0,089 g	0,077 abc
Media total	0,066A	0,084 B	0,066 A	0,082 B	0,080 A	0,081 A

1=Valores medios con letras distintas son significativamente diferentes para la Prueba de Rangos múltiples por LSD con un p-valor < a 0,05.

2=Valores medios de cada sistemas de cultivo con letras distintas son significativamente diferentes para la Prueba de Rangos múltiples por LSD con un p-valor < a 0,05.

4.3.3 Evolución de la actividad catalasa en los distintos momentos y puntos de muestreo

El análisis del comportamiento general de la actividad catalasa en ambos sistemas de cultivo durante el experimento, hizo evidente que los valores de la actividad catalasa fueron en general mayores después de que se estableció el cultivo de las variedades de pimientos. (Figura 13). Además, se observó que la actividad catalasa en el cultivo ecológico se mantuvo estable entre la fase intermedia del cultivo y el final del cultivo con un incremento del 44% en ambos momentos evaluados, con respecto al momento inicial del experimento. Sin embargo, en la rizosfera el incremento de la actividad catalasa con respecto al momento inicial fue de un 74%. Por su parte, en el sistema convencional, los incrementos de la actividad catalasa fueron de un 50% en la fase intermedia del cultivo, un 48% en la fase final y un 45% en la rizosfera. De esta manera es claro que el incremento de la actividad catalasa con respecto al momento inicial en la rizosfera en el cultivo ecológico es mucho mayor que en el cultivo convencional, y además en el cultivo convencional la actividad catalasa parece permanecer más o menos estable con una leve tendencia a la disminución a lo largo del experimento (Figura 13).

Cultivo Ecológico

Al estudiar la evolución de la actividad catalasa en el cultivo ecológico con respecto a las variedades, se evidenció una variación en los niveles de la enzima en cada variedad al pasar de un momento de evaluación a otro (Figura 14), esto a pesar de que en promedio la actividad catalasa en el cultivo ecológico, fue similar a mitad del ciclo, al final (Tabla 9, Figura 14). En el análisis realizado en la fase intermedia del ciclo de cultivo con muestras de suelo colectadas entre plantas, la mayoría de las variedades mostró una tendencia al aumento en su actividad catalasa al compararse con el valor medio de la actividad de la enzima en el momento inicial del cultivo. Solo las variedades Pasilla, Piquillo y ECU 994, disminuyeron su actividad en ese momento.

Por otro lado, al final del ciclo de cultivo, en el análisis realizado con muestras de suelo colectadas entre plantas, fue evidente la separación de dos grupos de variedades; un grupo con una tendencia a aumentar su actividad catalasa en la fase final del cultivo con respecto

a la fase intermedia y el otro grupo con tendencia a disminuirlo (Figura 14). Aunque también se puede observar la variedad Bola que mantuvo una respuesta similar en su actividad enzimática en la fase intermedia y final del cultivo.

Además, el análisis realizado en las muestras de rizosfera de cada planta en cada variedad, colectadas al terminar el ciclo de cultivo, mostró una tendencia general al aumento de la actividad catalasa de las variedades (Figura 14). Sin embargo las variedades Ají Dulce, Mojo Palmero, Numex Conquistador, Numex 6-4 y Pasilla disminuyeron un poco la actividad de la enzima en esta fase del cultivo (Figura 14).

Cultivo convencional

En el cultivo convencional, el momento de menor actividad media de la catalasa fue en muestras de suelo al inicio del experimento antes del trasplante (Tabla 9, Figura 15). En el momento intermedio, hubo una tendencia al aumento en la actividad de la catalasa del suelo de todas las variedades excepto Bierzo que se mantuvo estable con un nivel de actividad muy similar, con respecto al nivel medio del suelo en el momento inicial (Figura 15).

Luego, en el momento final se evidenció un pequeño cruce entre algunas variedades que disminuyeron su actividad catalasa y otras que la aumentaron. Sin embargo la tendencia marcada predominantemente por las variedades en general es la disminución de la actividad catalasa con respecto al momento intermedio (Figura 15). De igual manera, en la rizosfera aunque se observaron algunas variedades que aumentaron su actividad catalasa y otras que la disminuyeron, en general las variedades tendieron a disminuir un poco su actividad enzimática (Figura 15).

El aumento de los niveles de actividad catalasa generales en el suelo en ambos sistemas de cultivo después de la siembra (Figuras 13, 14 y 15) puede explicarse con lo sugerido por García *et al.* (1994), quien indica que la presencia de vegetación en el suelo proporciona protección física y aporta materia orgánica que mejora la capacidad de retención de agua en el suelo y las características de fertilidad del suelo. Las plantas tienen la capacidad de liberar sustancias por sus raíces influyen en la composición de la comunidad de microorganismos en el suelo que les ayuden a generar las condiciones requeridas por ellas (Oburger *et al.*, 2014). Lo anterior también podría explicar que, en el sistema convencional,

como respuesta a la aplicación del tratamiento con el insecticida clorpirifos justo unos días antes del muestreo en la fase intermedia del cultivo, los microorganismos del suelo asociados a las plantas hayan aumentado la producción de enzimas catalasa (al igual que la fosfatasa alcalina), como acción de defensa en contra del producto, es decir con el fin de degradarlo. Esto además deja ver que los niveles enzimáticos más altos en algunas variedades con respecto a otras variedades en ambos sistemas de cultivo, se debe a una mayor capacidad de ciertas variedades de plantas para además de generar comunidades de microbios que le sean útiles, también defenderse y participar en la degradación del insecticida en el suelo y posiblemente hasta para captar nutrientes (por ejemplo carbono) a partir de allí.

Finalmente, es de destacar en este estudio, que a pesar de que la actividad catalasa fue mayor en el cultivo convencional desde la fase inicial del cultivo hasta la fase final (rizosfera no incluida) (Figura 13), la evolución general de la actividad catalasa dentro del cultivo convencional, evidenció un gran incremento de la actividad de la enzima (75%) en la rizosfera con respecto a la actividad catalasa al momento inicial del experimento. Este incremento estuvo por encima del observado en la rizosfera en el cultivo convencional (45%). Esto demuestra que durante el experimento la actividad catalasa en la rizosfera se vio mucho más favorecida en el sistema ecológico que en el convencional. Basado en Guangming *et al.* (2017) esto era de esperarse ya que en sistemas agrícolas con una mayor aportación de materia orgánica se presenta una mayor actividad enzimática. La materia orgánica favorece la actividad catalasa debido a que la enzima cataliza la transformación del peróxido, que es una de las formas tóxicas del oxígeno para los organismos vivos, éste se forma durante los procesos respiratorios y es producido en pequeñas cantidades por casi todos los organismos que crecen aeróbicamente. El peróxido actúa principalmente a nivel intracelular, pero permanece activo fuera de las células microbianas asociado con la materia orgánica del suelo (Perucci *et al.*, 1997). Por esta razón la aplicación de materia orgánica a un suelo genera un incremento en la actividad catalasa del mismo.

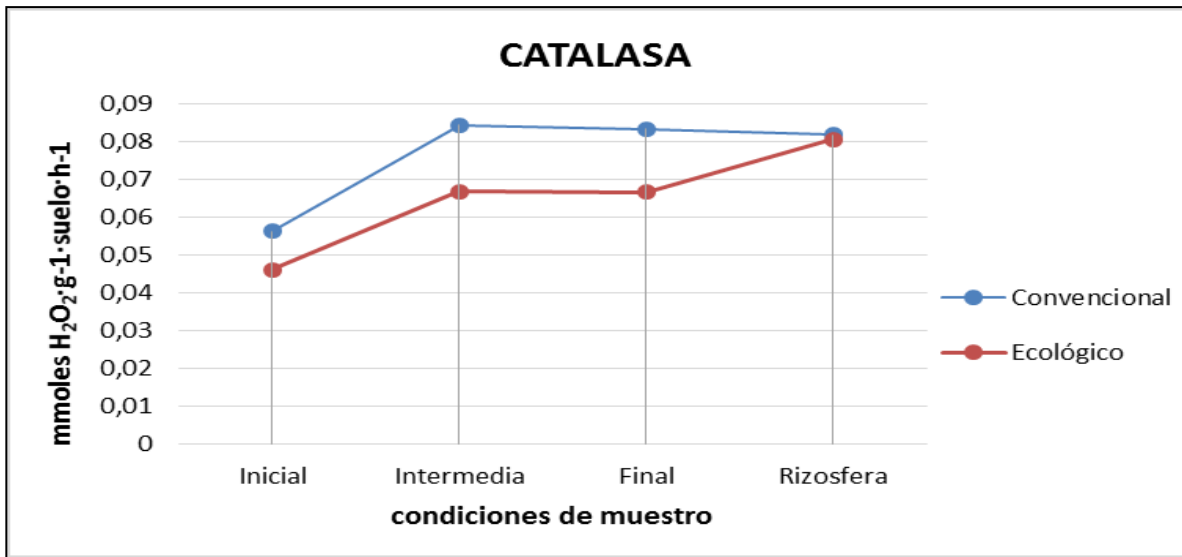


Figura 13. Comparación general de los sistemas de cultivo con respecto a la actividad catalasa al inicio del cultivo, a mitad de cultivo, a final de cultivo y en la rizosfera.

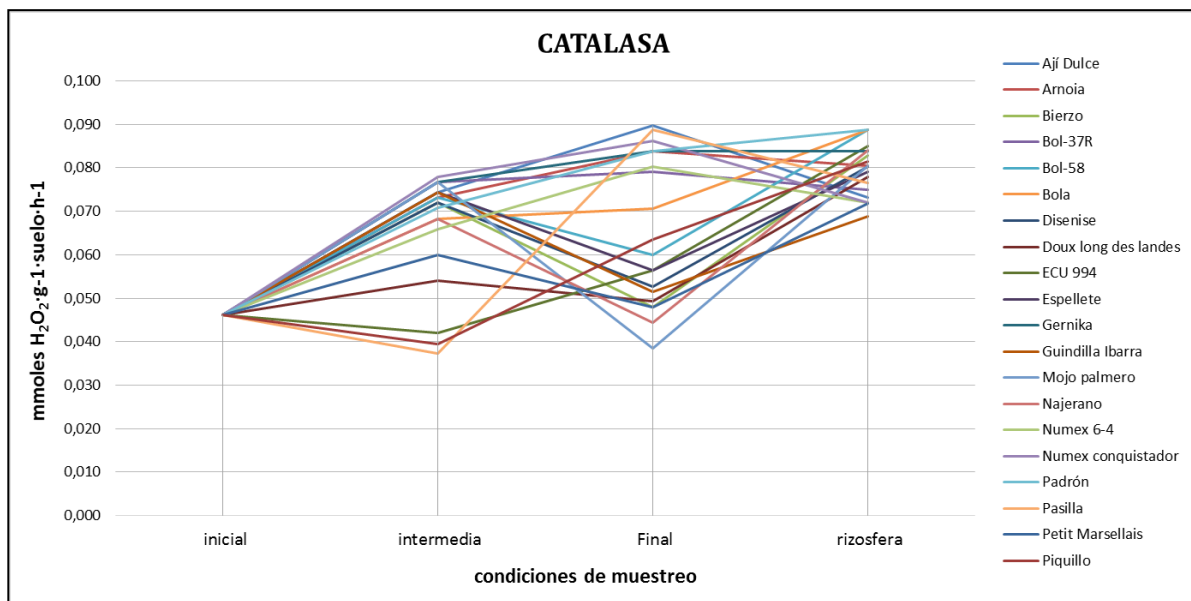


Figura 14. Secuencia de las variedades estudiadas en función de la actividad catalasa, al inicio a mitad, al final del ciclo de cultivo y en la rizosfera en el sistema ecológico.

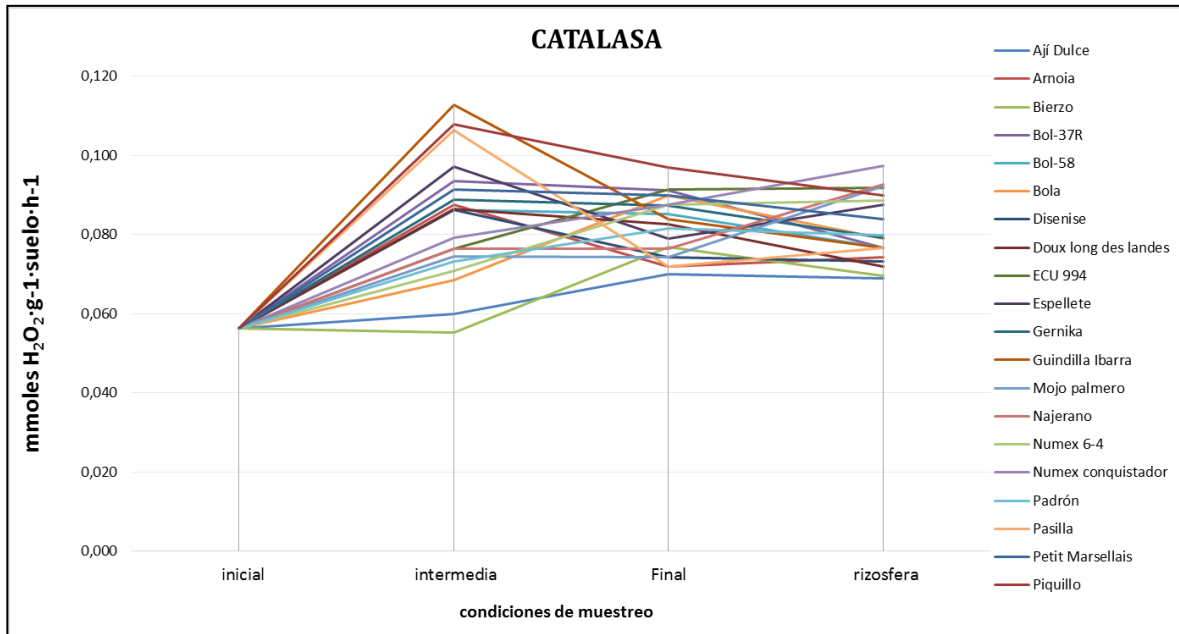


Figura 15. Secuencia de las variedades estudiadas en función de la actividad catalasa, al inicio, a mitad y al final del ciclo de cultivo y en la rizosfera en el sistema de cultivo convencional.

5 CONCLUSIONES

Atendiendo a los objetivos planteados para el presente estudio, y teniendo en cuenta los resultados obtenidos, se puede concluir que:

- Las actividades fosfatasa alcalina y catalasa evaluadas, sugieren una fertilidad mayor para el suelo del campo convencional con respecto al campo ecológico. Sin embargo, este resultado pudo darse a causa de una alteración de la respuesta enzimática del suelo que generó el aumento de los niveles de ambas enzimas en el cultivo convencional, causado por la aplicación del insecticida Clorpirifos, el cual está reportado en algunos estudios como un estimulador de la actividad enzimática (fosfatasa y catalasa) en el suelo, como respuesta de los microorganismos y las mismas plantas en su lucha por degradar el insecticida.
- Los ANOVA para la actividad fosfatasa en cada condición de muestreo, evidenciaron que en las tres condiciones (i.e. mitad y final de cultivo y rizosfera), los factores variedad, sistema de cultivo y su interacción contribuyeron significativamente a la variación observada en la actividad fosfatasa. De igual manera los ANOVA para la actividad catalasa, arrojaron que la variación observada en la actividad de la enzima en el momento intermedio y en el momento final del muestro se debieron al efecto significativo de la variedad, del sistema de cultivo y de su interacción. Sin embargo, en la rizosfera la variación en la actividad catalasa se debió solo a la variedad y la interacción variedad×sistema de cultivo, pero fue indiferente al sistema de cultivo.
- Al final del ciclo de cultivo a pesar de haberse tomado las muestras en el mismo momento para el análisis de suelo entre plantas y para el análisis de rizosfera, los niveles de actividad enzimática fueron mayores en la rizosfera con respecto a la masa de suelo, confirmando que en la rizosfera hay una mayor actividad biológica y una mayor interacción suelo – planta en ambos sistemas de cultivo.
- Existe una gran diversidad varietal tanto para la actividad fosfatasa alcalina como para la actividad catalasa, lo que quedó evidenciado a través de los amplios rangos de variación observados entre las variedades estudiadas en los dos sistemas de cultivo.

- Con el análisis de la interacción variedad×sistema de cultivo basado en los ratios calculados, se pudo detectar comportamientos opuestos entre algunas variedades. Se identificaron variedades con un mejor comportamiento en sistema de cultivo frente al otro. Así como variedades con un comportamiento más estable, es decir, similar en ambos sistemas de cultivo. De esta manera la exploración de la interacción variedad×sistema de cultivo permite seleccionar variedades adaptadas al cultivo ecológico específicamente o variedades con un buen comportamiento en ambos tipos de cultivo

6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbott, L.K., y D.V. Murphy. 2003. Soil biological fertility: a key to sustainable land use in agriculture. Springer Science & Business Media. Australia.
- Akhtar, M.S., Z.A. Siddiqui, y A. Wiemken. 2011. Arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobium to control plant fungal diseases, p. 263-292. En: E. Lichtfouse (ed.). Alternative farming systems, biotechnology, drought stress and ecological fertilisation. Springer Science & Business Media Netherlands.
- Andrews, J. 1984. Peppers: The domesticated capsicums. University of Texas Press, TX, EEUU.
- Andrews, J. 1995. Peppers: The domesticated Capsicums. Univeristy of Texas Press. TX, EEUU.
- Araújo, A.S., S. Cesarz, L.F.C Leite, C.D. Borges, S.M. Tsai, N. Eisenhauer. 2013. Soil microbial properties and temporal stability in degraded and restored lands of Northeast Brazil. Soil Biol. Biochem. 66:175–181.
- Badiane, N.N.Y., J.L. Chotte, E. Pate, D. Masse y C. Rouland. 2001. Use of soil enzyme activities to monitor soil quality in natural and improved fallows in semi-arid tropical regions. Applied soil ecology 18(3): 229-238.
- Baligar, V. C., N. K. Fageria, y Z. L. He. 2001. Nutrient use efficiency in plant. Com. in Soil Scien. and Plant Analysis 32(7): 921-950.
- Baroccio, A. 1958. L'attività catalasica del suolo come "indice pedobiologico" di fertilità. Agrochimica 2: 243-255.
- Beck, T. 1971. Die Messung der Katalasenaktivität von Böden. Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde 130: 68-81.
- Bell J.M., C.A. Robinson y R.C. Schwartz. 2006. Changes in soil properties and enzymatic activities following manure applications to a rangeland. Rangeland Ecol Manage 59:314–320.
- Bosland, P.W. y E.J. Votava. 2012. Peppers: Vegetable and Spice Capsicums. Vol. 22. CABI, New Mexico, USA.
- Bosland, P.W. 1996. Capsicums: Innovative uses of an ancient crop, p. 479-487. En: J. Janick (ed.). Progress in new crops. ASHS Press, Arlington, EE.UU.
- Burns, R.G. 1978. Soil Enzymes. Academic Press, London. UK.
- Chiou, K.L. y C.A. Hastorf. 2014. A systematic approach to species-level identification of chile pepper (*Capsicum* spp.) seeds: establishing the groundwork for tracking the domestication and movement of chile peppers through the Americas and beyond. Economic botany 68(3): 316-336.
- D'Arcy, W.G. y W.H. Eshbaugh. 1974. New World peppers (*Capsicum-Solanaceae*) north of Colombia. Baileyya 19: 93-105.
- Dick, W.A., M.A. Tabatabai. 1978. Inorganic pyrophosphatase activity in soils. Soil Biology y Biochemistry 10: 59-65.
- Douglas, L.A., A. RiazI-HamadanI, F.B. Field. 1976. Assay of pyrophosphatase in soil. Soil Biology y Biochemistry 8: 391-393.

6. Referencias bibliográficas

- Effron, D.N., G.C. Sarti, M.C. Quinteros, y S.I. Catán. 2012. Influencia de las especies de árboles implantados en los parámetros biológicos y bioquímicos en un suelo forestal de Chubut, Argentina. *Información tecnológica* 23 (2):87-92.
- FAO. 2017. FAOSTAT. <http://faostat3.fao.org/> (Consultado el 15 de julio de 2017).
- FAO. 1999. Agricultura Orgánica. <http://www.fao.org/unfao/bodies/COAG/COAG15/X0075S.htm> (Consultado el 28 de Julio de 2017)
- Fernández L.A., C. Valverde, M.A. Gómez. 2013. Isolation and characterization of atrazine-degrading *Arthrobacter* sp. strains from Argentine agricultural soils. *Annals of Microbiology* 63:207-214.
- García, C., T. Hernández y F. Costa. 1994. Microbial activity in soils under Mediterranean environmental conditions. *Soil Biol. Biochem.* 26:1185–1191.
- Giesy, J.P., K.R. Solomon, J.R. Coats, K.R. Dixon, J.M. Giddings y E.E. Kenaga. 1999. Chlorpyrifos: Ecological risk assessment in North American aquatic environments. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 160: 1-129.
- Giuffrida, D., P. Dugo, G. Torre, C. Bignardi, A. Cavazza, C. Corradini y G. Dugo. 2013. Characterization of 12 *Capsicum* varieties by evaluation of their carotenoid profile and pungency determination. *Food Chemistry* 140(4): 794-802.
- González, V., y F. Pomares. 2008. La fertilización y el balance de nutrientes en sistemas agroecológicos. *Sociedad Española de Agricultura Ecológica*, Madrid. España.
- Google maps. 2017. maps.google.es (consultado el 30 de Julio de 2017)
- Gourley, C.J.P., D.L. Allan, y M.P. Russelle. 1994. Plant nutrient efficiency: a comparison of definitions and suggested improvement. *Plant and Soil* 158(1): 29-37.
- Guangming, L., Z. Xuechen, W. Xiuping, S. Hongbo, Y. Jingsong, y W. Xiangping. 2017. Soil enzymes as indicators of saline soil fertility under various soil amendments. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 237: 274-279.
- Heiser, C.B. y P.G. Smith. 1953. The cultivated *Capsicum* peppers. *Economic Botany* 7(3): 214-227.
- Heiser, C.B. 1976. Peppers-Capsicum (Solanaceae), p. 265-268. En: N.W. Simmonds (ed.). *Evolution of crop plants*. Longman, London, UK.
- Henríquez, C., L. Uribe, A. Valenciano y R. Nogales. 2014. Actividad enzimática del suelo-Deshidrogenasa, β Glucosidasa, Fosfatasa y Ureasa-bajo diferentes cultivos. *Agronomía Costarricense*, 38(1).
- Hinsinger, P., A.G. Bengough, D. Vetterlein, y I. M. Young. 2009. Rhizosphere: biophysics, biogeochemistry y ecological relevance. *Plant and soil* 321(1-2):117-152.

- Ismail S.M. 2010. Influence of deficit irrigation on water use efficiency and bird pepper production (*Capsicum annum* L.). *Met. Env. Arid Land Agric. Sci.* 21: 29-43.
- Jiménez-Moreno, M.J. y R. Fernández-Escobar. 2017. Influence of nutritional status of phosphorus on flowering in the olive (*Olea europaea* L.). *Scientia Horticulturae* 223: 1-4.
- Johnson, J.L., K.L. Temple. 1964. Some variables affecting the measurement of "Catalase activity" in soil. *Soil Science Society of America Proceedings* 28: 207-209.
- Jones, D., C. Nguyen, D.R. Finlay. 2009. Carbon flow in the rhizosphere: carbon trading at the soil-root interface. *Plant Soil* 321: 5-33.
- Kumar, A., B.R. Maurya, R. Raghuwanshi, V.S. Meena, y M.T. Islam. 2017a. Co-inoculation with *Enterobacter* and *Rhizobacteria* on Yield and Nutrient Uptake by Wheat (*Triticum aestivum* L.) in the Alluvial Soil Under Indo-Gangetic Plain of India. *Journal of Plant Growth Regulation*, 1-10.
- Kumar, A., V.S. Meena, B.R. Maurya, R. Raghuwanshi, J.K. Bisht y A. Pattanayak. 2017b. Towards the biological nitrogen fixation and nitrogen management in legume under sustainable agricultura, 221-222.
- Lino, I.A.N., V.M. Santos, I.E.C. Escobar, D.K.A. Silva, A.S.F. Araújo y L.C. Maia. 2016. Soil enzymatic activity in *Eucalyptus grandis* plantations of different ages. *Land Degradation & Development* 27(1): 77-82.
- MAPAMA (Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente). 2017. <http://www.mapama.gob.es/es/> (Consultado el 15 de julio de 2017).
- Maroto, J.V. 2002. *Horticultura Herbácea Especial*. 5ta ed., Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. España.
- Marinari, S., C. Moscatelli, y S. Grego. 2014. Enzymes at plant-soil interface, p. 94-109. En: *Enzymes in agricultural sciences*. OMICS Group eBooks, Foster City, EE.UU.
- McDonald G., W. Bovill, C. Huang, D. Lightfoot. 2013. Nutrient use efficiency, p. 333-393. En: C. Kole (ed). *Genomics and breeding for climate-resilient crops*. Springer, Berlín, Alemania.
- McLeod M.J., S.I. Guttman y W.H. Eshbaugh. 1982. Early evolution of chili peppers (*Capsicum*). *Economic Botany* 36: 361-368.
- McLeod, M.J., S.I. Guttman, W.H. Eshbaugh y R.E. Rayle. 1983. An electrophoretic study of evolution in *Capsicum* (Solanaceae). *Evolution* 37: 562-574.
- Meena, V.S., S.K. Meena, J.P. Verma, A. Kumar, A. Aeron, P.K. Mishra, y M.L. Dotaniya. 2017. Plant beneficial rhizospheric microorganism (PBRM) strategies to improve nutrients use efficiency: A review. *Ecological Engineering* 107: 8-32.

- Meena, V.S., B.R. Maurya, J.S. Bohra, R. Verma y M.D. Meena. 2013. Effect of concentrate manure and nutrient levels on enzymatic activities and microbial population under submerged rice in alluvium soil of Varanasi. *Crop Res.* 45 (1-3): 6–12.
- Meena, V.S., B.R. Maurya y J.P. Verma. 2014. Does a rhizospheric microorganism enhance K+ availability in agricultural soils? *Microbiol. Res.* 169: 337–347.
- Mendes, R., M. Kruijt, I. de Bruijn, E. Dekkers, M. van der Voort, J.H. Schneider y J.M. Raaijmakers. 2011. Deciphering the rhizosphere microbiome for disease-suppressive bacteria. *Science* 332(6033): 1097-1100.
- Mohammad Saghir Khan, Almas Zaidi, Munees Ahemad, Mohammad Oves & Pervaze Ahmad Wani (2010): Plant growth promotion by phosphate solubilizing fungi – current perspective, *Archives of Agronomy and Soil Science*, 56:1, 73-98.
- 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). Mexico.
- Morgera E., C.B. Caro, G.M. Durán. 2012. Organic agriculture and the law report (FAO Legislative Study). Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, Italy.
- Namesny A. 2006. Pimientos. *Compendios de Horticultura* 16. 2da ed. Eds. de Horticultura, Barcelona, España.
- Nannipieri, P., L. Giagnoni, G. Renella, E. Puglisi, B. Ceccanti, G. Masciandaro, F. Fornasier, M.C. Moscatelli y S. Marinari. 2012. Soil enzymology: classical and molecular approaches. *Soil Fert. Soils.* 48 (7): 743–762.
- Nannipieri, P., S. Grego y B. Ceccanti. 1990. Ecological significance of the biological activity in soil. *Soil biochemistry* 6:293-355.
- Nath, D., B.R. Maurya, V.S. Meena. 2017. Documentation of five potassium-and-phosphorus-solubilizing bacteria for their K and P-solubilization ability from various minerals. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 10: 174–181.
- Navarro, J.M., Flores, P., Garrido, C., Martínez, V., 2006. Changes in the contents of antioxidant compounds in pepper fruits at different ripening stages, as affected by salinity. *Food Chem.* 96, 66–73.
- Neidhardt FC, III.R Curtiss, J.L. Ingraham, E.C.C. Lin, K.B. Low, B. Magasanik, W.S. Reznikoff, M. Riley, M. Schaechter y H.E. Umbarger. 1996. *Escherichia Coli and Salmonella. Cellular and Molecular Biology*, vol. 1. 2da ed. ASM Press, Washington, DC, EE.UU.
- Nuez, F., R. Gil-Ortega, J. Costa. 2003. *El cultivo de pimientos, chiles y ajíes*. Mundi Prensa, Madrid, España.

- Oburger, E., B. Gruber, Y. Schindlegger, W.D.C. Schenkeveld, S. Hann, S.M. Kraemer, W.W. Wenzel, M. Puschenreiter. 2014. Root exudation of phytosiderophores from soil-grown wheat. *New Phytologist* 203:1161-1174.
- Olander, L.P., y P.M. Vitousek. 2000. Regulation of soil phosphatase and chitinase activity by N and P availability. *Biogeochemistry*, 49(2):175-191.
- Perucci P.; U. Bonciarelli, R. Santilocchi, A.A. Bianchi. 1997. Effect of rotation, nitrogen fertilization and management of crop residues on some chemical, microbiological and biochemical properties of soil. *Biol. Fertil. Soils* 24: 311-316
- Pickersgill B. 1969. The domestication of chili peppers, p. 443-450. En: P.J. Ucko y G.W. Dimbley (eds.). *The domestication and exploration of plants and animals*. Duckworth, London. UK.
- Pochard, E., A. Palloix, A.M. Daubeze. 1992. Le piment, p. 420-447. En: A. Gallais, H. Bannerot (eds.). *Amélioration de espèces végétales cultivées. Objectifs et critères de selection*. INRA, Paris, Francia.
- Purev, D., J. Bayarmaa, B. Ganchimeg, B. Ankhtsetseg y O. Anumandal. 2014. Catalase, protease and urease activity in some types of soil. *Mongolian Journal of Chemistry* 13: 16-18.
- Rakshit, A., H.B. Singh, A. Sen. 2015. *Nutrient Use Efficiency: from Basics to Advances*. Springer, India.
- Razavi, B.S., M. Zarebanadkouki, E. Blagodatskaya y Y. Kuzyakov. 2016. Rhizosphere shape of lentil and maize: spatial distribution of enzyme activities. *Soil Biology and Biochemistry* 96: 229-237.
- Reglamento (CEE) N° 2092/91 (Anexo II-B del reglamento 2092/91) del Consejo de 24 de junio de 1991 sobre la producción agrícola ecológica y su indicación en los productos agrarios y alimenticios. [http://www.mapama.gob.es/es/alimentacion/temas/la-agricultura-ecologica/R\(CEE\)2092-1991_tcm7-52770.pdf](http://www.mapama.gob.es/es/alimentacion/temas/la-agricultura-ecologica/R(CEE)2092-1991_tcm7-52770.pdf) (consultado el 28 de Julio 2017)
- Richardson, A.E. 2001. Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants. *Functional Plant Biology* 28(9): 897-906.
- Rodriguez-Burruezo, A., F. Nuez. 2006. Mejora de la calidad del pimiento, p. 361-391. En: J.M. Carrillo, M.J. Díez, M.L. Badenes, G. Llácer, (eds.). *Mejora genética de la calidad de las plantas*. Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España.
- Shiyin, L., N. Lixiao, P. Panying, S. Cheng y W. Liansheng, 2004. Effects of pesticides and their hydrolysates on catalase activity in soil. *Bulletin of environmental contamination and toxicology* 72(3): 600-606.
- Shukla, G. y A. Varma (eds.). 2010. *Soil enzymology*. Vol. 22. Springer Science & Business Media. India.
- Singh, B.K. y A. Walker. 2006. Microbial degradation of organophosphorus compounds. *FEMS Microbiology Reviews* 30: 428–471.

- Sinsabaugh, R.L., C.L. Lauber, M.N. Weintraub, B. Ahmed, S.D. Allison, C. Crenshaw, A.R. Contosta, D. Cusack, S. Frey, S.E. Gallo, K. Holland, B.L. Keeler, J.S. Powers, M. Stursova, C. Takacs-Vesbach, M.P. Waldrop, M.D. Wallenstein, D.R. Zak, y L.H. Zeglin. 2008. Stoichiometry of soil enzyme Actividad a escala global. *Ecology Letters*, 11: 1252 - 1264.
- Skujins, J. 1978. History of abiotic soil enzymes research, p. 1-49. En: R.G. Burns (Ed). *Soil Enzymes*. Academic Press, London, UK.
- Smith, P.G. y C.B. Heiser. 1957. Taxonomy of *Capsicum sinense* Jacq. and the geographic distribution of the cultivated *Capsicum* species. *Bull. Torrey Bot. Club* 84: 413-420.
- Spohn, M., y Y. Kuzyakov. 2013. Phosphorus mineralization can be driven by microbial need for carbon. *Soil Biology y Biochemistry* 61: 69-75.
- Srinivasulu, M., G.J. Mohiddin, K. Subramanyam y V. Rangaswamy .2012. Effect of insecticides alone and in combination with fungicides on nitrification and phosphatase activity in two groundnut (*Arachis hypogaeae* L.) soils. *Environmental geochemistry and health*, 34(3): 365-374.
- Tabatabai, M.A. y J.M. Bremner. 1969. Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biology & Biochemistry* 1: 301-307.
- Thompson, H.C., WC. Kelly. 1957. *Vegetable Crops*. 5ta. ed. Mc Graw Hill Book, New York, EEUU.
- Villalba, S.Q., y J.P.E. Fuentes. 1995. *Agricultura Sostenible*. Editorial Rivadeneyra SA, Madrid, España.
- Willer, H., y J. Lernoud. 2016. The world of organic agriculture. Statistics and emerging trends, p. 1-336. Research Institute of Organic Agriculture and IFOAM Organics International. Suiza.
- Zabaloy M.C., J.L. Garland, M.A. Gomez. 2010. Assessment of the impact of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) on indigenous herbicide-degrading bacteria and microbial community function in an agricultural soil. *Applied Soil Ecology* 46: 240-246.
- Zamora, F., J. Mogollón y N. Rodríguez. 2005. Cambios en la biomasa microbiana y la actividad enzimática inducidos por la rotación de cultivos en un suelo bajo producción de hortalizas en el estado de Falcón, Venezuela. *Multiciencias* 5(1): 162-701