UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA

INSTITUTO DE HORTICULTURA

"Enseñar la explotación de la tierra, no la del hombre"

"COMPATIBILIDAD Y DESEMPEÑO AGRONÓMICO DEL CHILE MANZANO (*Capsicum pubescens* R. y P.) INJERTADO SOBRE CM-334 (*Capsicum annuum* L.)"

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER

EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS EN

HORTICULTURA

UNIVERSIDAD AUTONOMA CHAPINGO MÉXICO

DIRECCIÓN GENERAL ACADÉMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXÁMENES PROFESIONALES

PRESENTA:

ESTELA MARTÍNEZ SORIANO

CHAPINGO, MÉXICO, JUNIO DE 2014

Investigación y Posgrado
Instituto de Horticultura

COMPATIBILIDAD Y DESEMPEÑO AGRONÓMICO DEL CHILE MANZANO (*Capsicum pubescens* R. y P.) INJERTADO SOBRE CM-334 (*Capsicum annuum* L.)

Tesis realizada por **Estela Martínez Soriano** bajo la dirección del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

DIRECTOR:

Dr. Mario Pérez Grajales

ASESOR:

Dr. Edilberto Avitia García

ASESOR:

Dr. José Luis Rodríguez de la O

Chapingo, México. Junio de 2014.

AGRADECIMIENTOS

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)**, por haberme otorgado la beca que hizo posible lograr un grado más en mi formación profesional.

A la **Universidad Autónoma Chapingo**, especialmente al Instituto de Horticultura del Departamento de Fitotecnia por darme la oportunidad de realizar mis estudios de posgrado.

A mi comité asesor: **Dr. Mario Pérez Grajales**, **Dr. Edilberto Avitia García** y **Dr. José Luis Rodríguez de la O** del Departamento de Fitotecnia, por su asesoría, correcciones y contribuciones para realizar este trabajo de investigación.

Al **Dr. Jorge Manuel Valdéz Carrasco** del Colegio de Postgraduados por su asesoría y apoyo en el trabajo de microfotografía; al **Dr. Santos Gerardo Leyva Mir** y al **MC. Dimas Mejía Sánchez** del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo, por su disposición en el trabajo realizado en los laboratorios de Micología y Biología Molecular, respectivamente.

Al **Dr. Juan Martínez Solís**, Coordinador del Posgrado en Horticultura, por su disposición y ayuda brindada para la mejora del presente trabajo.

Al personal técnico de los laboratorios de Anatomía de Frutales del Departamento de Fitotecnia (Ángela) y Micología del Departamento de Parasitología Agrícola (Marianita y Juanito).

A todos los profesores del Posgrado de Horticultura que contribuyeron en mi formación profesional.

A mis nuevos amigos: Martha, Sandra, Alma, José Luis, Alfredo, Pedro, Aldo y Miguel, por su amistad y el apoyo brindado.

DEDICATORIA

Con mucho cariño a mis padres, Estela Soriano Cruz y Crescencio Martínez Hernández, por su amor, confianza y apoyo incondicional.

A mis hermanos, Mónica, Laura, Julio César, Oscar y Crescencio, a quienes quiero mucho y agradezco sus cuidados, apoyo y ejemplo a seguir.

A mis sobrinas y sobrinos, por la alegría y amor con que llenan a la familia.

Estela MS.

DATOS BIOGRÁFICOS

Estela Martínez Soriano nació el 20 de mayo de 1987 en el Distrito de Huajuapan de León, Oaxaca. Realizó sus estudios de licenciatura en el Departamento de Parasitología Agrícola en la Universidad Autónoma Chapingo (2005-2009), donde obtuvo el grado de Ingeniero Agrónomo Especialista en Parasitología mediante la realización del trabajo de investigación titulado "Etiología y control del moho gris y pudrición en tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill.), en Totolapan, Morelos".

Trabajó como asesora técnica en la cadena maíz, en el Municipio de Acapulco Guerrero (2009) y en la coordinación del Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria (SINAVEF) del Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA) durante el periodo 2010-2012.

En enero de 2012 ingresó a la Maestría en Ciencias en Horticultura en el Departamento de Fitotecnia en la Universidad Autónoma Chapingo.

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE FIGURAS ..... **IX**

ÍNDICE DE CUADROS ..... **XI**

COMPATIBILIDAD Y DESEMPEÑO AGRONÓMICO DEL CHILE MANZANO (*Capsicum pubescens* R. y P.) INJERTADO SOBRE CM-334 (*Capsicum annuum* L.) **XII**

RESUMEN GENERAL ..... **XII**

GENERAL ABSTRACT **12**

INTRODUCCIÓN GENERAL **1**

CAPÍTULO I. SINCRONIZACIÓN, COMPATIBILIDAD Y ANATOMÍA DEL CHILE MANZANO INJERTADO SOBRE CHILE SERRANO "CRIOLLO DE MORELOS 334" **6**

RESUMEN **6**

ABSTRACT **6**

1. INTRODUCCIÓN **7**

2. MATERIALES Y MÉTODOS **11**

2.1 Injerto realizado en cámara de curado **11**

2.1.1 Localización del sitio experimental **11**

2.1.2 Producción de plántula **11**

2.1.3 Pruebas de germinación y sincronización de la plántula para la injertación……. **11**

2.1.4 Proceso de injertación **12**

2.1.5 Anatomía del tallo en el proceso de prendimiento de la plántula injertada……. **18**

2.1.6 Morfología del tallo **20**

2.2 Injerto realizado *in vitro* **21**

2.2.1 Localización del sitio experimental **21**

2.2.2 Producción de plántula **21**

2.2.2.1 Porcentaje de germinación de acuerdo al método de siembra **21**

2.2.2.2 Evaluación de reguladores de crecimiento **22**

2.2.3 Sincronización de plántula **23**

2.2.4 Proceso de injertación **23**

2.2.5 Análisis estadísticos **28**

3. RESULTADOS **28**

3.1 Injerto elaborado en cámara de prendimiento 28

3.1.1 Porcentaje de germinación y sincronización de plántulas bajo condiciones de invernadero 28

3.1.2 Porcentaje de prendimiento de plantas injertadas bajo condiciones de invernadero 29

3.1.3 Anatomía de los tejidos vasculares de la plántula injertada 30

3.1.4 Morfología del tallo 34

***3.2* Injerto *in vitro* 37**

3.2.1 Porcentaje de germinación 37

3.2.2 Evaluación de reguladores de crecimiento en plantas cultivadas *in vitro*……. 38

3.2.3 Porcentaje de prendimiento de plantas injertadas *in vitro* 39

4. DISCUSIÓN 40

5. CONCLUSIONES 44

6. LITERATURA CITADA 45

CAPITULO II. DESEMPEÑO AGRONÓMICO DE CHILE MANZANO INJERTADO SOBRE CHILE SERRANO CRIOLLO DE MORELOS 334 50

RESUMEN 50

ABSTRACT 50

1. INTRODUCCIÓN 50

2. MATERIALES Y MÉTODOS 55

2.1 Localización y condiciones del sitio experimental 55

2.2 Material vegetal 55

2.3 Establecimiento y manejo del cultivo en invernadero 55

2.4 Plagas y enfermedades 56

2.5 Diseño experimental y tratamientos 57

2.5.1 Experimento 1. Efecto del injerto de chile manzano sobre CM-334 57

2.5.2 Experimento 2. Efecto de niveles de poda en injertos de chile manzano sobre CM-334 58

2.5.3 Experimento 3. Inoculación micorrízica en plantas de chile manzano 58

2.5.3.1 Determinación del porcentaje de inoculación radical 59

2.6 Variables evaluadas 60

2.6.1 Variables de rendimiento 60

2.6.2 Variables de calidad de fruto 61

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 64

3.1 Efecto de dos niveles de poda en planta de chile manzano injertada sobre CM-334 en las variables de rendimiento y calidad de fruto 64

3.2 Efecto del injerto de chile manzano sobre CM-334 en las variables de rendimiento, morfología y calidad de fruto 67

3.3 Porcentaje de colonización de micorrizas 72

4. CONCLUSIONES 73

5. LITERATURA CITADA 74

DISCUSIÓN GENERAL 77

CONCLUSION GENERAL 80

LITERATURA CITADA GENERAL 81

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Proceso de injertación de chile manzano (*Capsicum pubescens* R. y P.) sobre chile serrano CM-334 (*Capsicum annuum*) en cámara de curado, injerto tipo empalme con grapa de plástico. A y B) Plantas de chile manzano y CM-334 con el mismo diámetro de tallo. C) Corte de 45° en tallos del injerto y portainjerto. D) Colocación de pinza de plástico y empalme del injerto y portainjerto. E y G) Cámara de prendimiento con baja y alta luminosidad. F) Planta injertada en cámara de prendimiento. H) Acondicionamiento de planta injertada. I) Planta lista para trasplante. 14

Figura 2. Esquema del proceso de injertación de chile manzano sobre CM-334 (procedimiento en cámara de curado). Sincronización de plántula, injerto y acondicionamiento. 17

Figura 3. Proceso de injertación *in vitro* de chile manzano (*Capsicum pubescens* R. y P.) sobre el portainjerto chile CM-334 (*Capsicum annuum*), injerto tipo empalme con grapa de plástico. A, B y C) Sincronización del portainjerto e injerto. D y E) Corte trasversal a 45° en portainjerto e injerto. F y G) Colocación de grapa de plástico y empalme del injerto y portainjerto. H) Planta injertada colocada en tubo de ensaye con medio MS y adicionado con vitaminas. I) Aclimatación de planta injertada. J) Planta lista para el trasplante..... 26

Figura 4. Esquema del proceso de injertación de chile manzano sobre CM-334 (procedimiento *in vitro*). Sincronización de plántula, injerto y acondicionamiento. 27

Figura 5. Días después de la germinación (ddg) y días después de que la plántula alcanza un diámetro de tallo (ddt) de 1.5 a 1.8 mm, en plantas de chile manzano variedad Grajales St. y serrano “Criollo de Morelos 334”..... 29

Figura 6. Primer muestreo, cinco días después de realizar el injerto. Corte longitudinal (A y B) y transversal (C y D) del sitio de unión del injerto de chile manzano sobre CM-334. X: xilema, SU: sitio de unión del injerto..... 30

Figura 7. Segundo muestreo, nueve días después de realizar el injerto. Corte longitudinal (A y B) y transversal (C y D) del sitio de unión del injerto de chile manzano sobre CM-334. X: xilema, SU: sitio de unión del injerto. 31

Figura 8. Tercer muestreo, trece días después de realizar el injerto. Corte longitudinal (A y B) y transversal (C y D) del sitio de unión del injerto de chile manzano sobre CM-334. X: xilema, SU: sitio de unión del injerto..... 32

Figura 9. Cuarto muestreo, diecisiete días después de realizar el injerto. Corte longitudinal (A y B) y transversal (C y D) del sitio de unión del injerto de chile manzano sobre CM-334. X: xilema, SU: sitio de unión del injerto..... 33

Figura 10. Quinto muestreo, veintiún días después de realizar el injerto. Corte longitudinal (A y B) y transversal (C y D) del sitio de unión del injerto de chile manzano sobre CM-334. X: xilema, SU: sitio de unión del injerto..... 34

Figura 11. Interacción en la interfase del injerto de plantas de chile manzano sobre CM-334 a los 90 (A, B) y 270 (C, D) días después del trasplante..... 36

Figura 12. Porcentajes de germinación de semilla cubierta (sc) y semilla semicubierta (ss) por el medio de cultivo, chile manzano variedad Grajales St. y serrano "Criollo de Morelos 334"..... 37

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Cronograma para la deshidratación, transparencia e inclusión en parafina del tejido vegetal muestreado (zona de unión del injerto de chile manzano sobre CM-334), en un procesador de tejidos automático (Histokinette Leica® Mod. 2000). 18

Cuadro 2. Procedimiento para la tinción con safranina y fast green de los cortes anatómicos de la zona de unión del injerto de chile manzano sobre CM-334..... 19

Cuadro 3. Tratamientos con reguladores de crecimiento utilizados para conocer su efecto en el crecimiento de plantas de chile manzano y CM-334 con fines de injertación..... 22

Cuadro 4. Efecto del portainjerto serrano "Criollo de Morelos 334" en el diámetro de tallo de plantas de chile manzano injertadas. 35

Cuadro 5. Diámetro promedio de tallo en injerto, sitio de unión y portainjerto de plantas de chile manzano injertadas sobre CM-334. 36

Cuadro 6. Altura de planta del portainjerto CM-334 y chile manzano variedad Grajales St. en respuesta a cuatro combinaciones de benciladenina (BA) y ácido giberélico (AG_3)... 38

Cuadro 7. Efecto de dos niveles de poda en el rendimiento de plantas de chile manzano injertadas sobre CM-334. 65

Cuadro 8. Efecto de dos niveles de poda en la morfología y calidad de fruto de plantas de chile manzano injertadas sobre CM-334..... 66

Cuadro 9. Efecto del injerto de empalme con pinza de plástico en el rendimiento de plantas de chile manzano injertadas sobre CM-334. 68

Cuadro 10. Efecto del injerto de empalme con pinza de plástico en la morfología y calidad de fruto de plantas de chile manzano injertadas sobre CM-334..... 69

Cuadro 11. Coeficientes de correlación de Pearson. Variables de rendimiento y calidad de fruto evaluadas en el experimento 1: niveles de poda en plantas de chile manzano injertadas sobre el portainjerto CM-334. 70

Cuadro 12. Coeficientes de correlación de Pearson. Variables de rendimiento y calidad de fruto evaluadas en el experimento 2: efecto del injerto de chile manzano sobre el portainjerto CM-334. 71

COMPATIBILIDAD Y DESEMPEÑO AGRONÓMICO DEL CHILE MANZANO (*Capsicum pubescens* R. y P.) INJERTADO SOBRE CM-334 (*Capsicum annuum* L.)

COMPATIBILITY AND AGRONOMIC BEHAVIOR OF MANZANO HOT PEPPER (*Capsicum pubescens* R. y P.) GRAFTED ON CM-334 (*Capsicum annuum* L.)

Estela **Martínez Soriano**[1] **y** Mario **Pérez Grajales**[2]

RESUMEN GENERAL

Uno de los principales patógenos que afectan al cultivo del chile manzano es el hongo *Phytophthora capsici* que puede causar pérdidas del 100 % cuando las condiciones ambientales son favorables. El portainjerto chile serrano "Criollo de Morelos CM-334" (*Capsicum annuum*) es considerado como el resistente universal a *P. capsici*. El objetivo de este trabajo fue estudiar la compatibilidad y desempeño agronómico del chile manzano injertado sobre CM-334. Se realizó el injerto tipo empalme con grapa de plástico en cámara de curado e *in vitro*, se tuvo un prendimiento del 90.9 % y 55.3 %, respectivamente. Se realizaron cortes anatómicos del punto de unión y se observaron células de callo depositando nuevo xilema y floema a los 13 días después de injertar. Las plantas injertadas en cámara de curado fueron cultivadas en condiciones de invernadero con tezontle y composta (2:1) como sustrato y uso de solución nutritiva de Steiner al 50 %. Al estudiar el efecto individual del portainjerto los valores promedio de las variables morfológicas y de rendimiento fueron mayores en plantas injertadas, con un aumento en rendimiento del 32 %, además el injerto permitió tres semanas de precocidad a producción. En la evaluación del efecto de niveles de poda en plantas de chile manzano injertadas, el manejo a dos tallos permitió aumentar el rendimiento 8.89 % con respecto a las de cuatro tallos y 42.58 % más que las plantas sin poda. Los frutos de plantas injertadas tuvieron las características de frutos comercializables en las variables: peso de fruto (70.37 g), volumen (95.85 ml), longitud (5.35 cm) y diámetro (5.5 cm). El uso de micorrizas promovió el 60.17 % de colonización en raíces del CM-334 en el sistema de producción manejado. Las plantas de chile manzano injertadas sobre CM-334 presentaron compatibilidad, manejadas a dos tallos y con inoculación de micorrizas, son una alternativa viable para el control de *P. capsici* sin disminuir el rendimiento y calidad de fruto.

PALABRAS CLAVE: *Phytophthora capsici*, injerto, resistencia a enfermedades, poda, micorrizas.

GENERAL ABSTRACT

One of the main pathogens that affect the manzano hot pepper crops is the fungus *Phytophthora capsici* that can cause 100 % losses when environmental conditions are favorable. The rootstock chili serrano "Landrace from Morelos CM-334" (*Capsicum annuum*) is considered the universal resistant to *P. capsici*. The aim of this research was study the compatibility and agronomic behavior of manzano hot pepper onto CM-334. The graft type splicing was performed in curing chamber and under *in vitro* conditions. The success of this process was 90.9 % and 55.3 % respectively. Anatomic sections of the junction were performed and callus cells were observed depositing new xylem and phloem at 13 days after grafting. Grafted plants in curing chamber were grown in greenhouse conditions with tezontle and compost (2:1) as substrate and the use of Stenier nutrient solution 50 %. By studying the individual effect of the rootstock average values of morphological variables and behavior were higher in grafted plants, with an increase in yield of 32 %, also the graft allowed three weeks of earliness to production. In the evaluation of pruning levels in plants of manzano hot pepper onto CM-334, handling two stems allowed to increase the yield 8.89 % higher than the plants handled with four stems and 42.58 % higher than the plants without pruning. The fruits of grafted plants had the characteristics of marketable fruits in the variables: weight (70.37 g), volume (95.85 ml), length (5.35 cm) and diameter (5.5 cm). The use of mycorrhizae presented 60.17 % of colonization in roots of the CM-334 in the production system handled. Plants from the manzano hot pepper onto CM-334 showed compatibility, managed two stems and with inoculation of mycorrhizae, they are a viable alternative for the control of *P.capsici* without reducing yield and fruit quality.

KEY WORDS: *Phytophthora capsici*, graft, disease resistance, pruning, mycorrhizae.

[1] Autora de la tesis/ Graduated student
[2] Director de tesis/ Thesis advisor

INTRODUCCIÓN GENERAL

El chile manzano es una especie originaria de las partes altas de Perú y Bolivia, de donde se introdujo a México a principios del siglo XX. Actualmente en nuestro país existen cerca de 2,000 ha establecidas con el cultivo en zonas altas (1700 a 2500 msnm) de los estados de Puebla, Michoacán, Veracruz, México, Chiapas, entre otros. La creciente demanda de chile manzano para el mercado de exportación y el mercado nacional requiere de mayor calidad, rendimiento, y oportunidad en su producción. Para ello, se han empleado técnicas más sofisticadas en la nutrición, riego, podas, tutoreo y, en el control de plagas y enfermedades en su proceso de cultivo (Pérez y Castro, 2008).

Dentro de las principales enfermedades que afectan al chile manzano se encuentra la marchitez o secadera del chile (Pérez y Castro, 2008), ocasionada por *Phytophthora capsici*; Agrios (2011) menciona que tal patógeno genera también la pudrición de la raíz del pimiento, zanahoria y calabaza, y la pudrición del fruto de pimiento, tomate, berenjena y las demás cucurbitáceas, entre otras plantas. La marchitez del chile generalmente se produce durante los periodos en que el ambiente cálido y húmedo es prolongado. *P. capsici* es diseminado hacia los órganos aéreos de las planta por agua superficial y salpique por lluvia (Blancard, 2000). El exceso de humedad en el suelo y temperaturas de 10 a 30 °C, con óptimas de 24 a 26 °C son determinantes para el desarrollo de ataques severos y pérdidas extensas; la saturación del suelo con agua por un mínimo de 5 horas es suficiente para favorecer la infección de las plantas por el patógeno (Stevenson, 2001). *P. capsici* penetra por estomas, lenticelas e hidátodos, o directamente rompiendo las barreras de protección de la cutícula de la planta, mediante

la secreción de enzimas pectolíticas que reblandecen o maceran los componentes de dichas barreras (Redondo-Juárez, 1986). En la mayoría de los casos el patógeno inicia su ataque a nivel del cuello de la planta produciendo cancros de color café oscuro, al principio húmedos y después se vuelven blandos y secos, acompañados de una ligera constricción que avanza rápidamente; esto ocasiona una marchitez progresiva del hospedante conforme avanza la enfermedad hasta que la planta cae al suelo y muere (Cruz-Alcalá, 1996).

Las tendencias de la actividad agrícola en el ámbito mundial, de reducir la dependencia de químicos sintéticos y el tamaño de las áreas dedicadas a la agricultura, sin que esto afecte el volumen y la calidad de la producción de alimentos, han impulsado a los investigadores a generar alternativas que permitan hacer más eficiente la producción con menor uso de agroquímicos (Solís *et al*., 2005).

La injertación es una práctica que permite evitar los tratamientos químicos de desinfección de suelo mediante el empleo de portainjertos resistentes a uno o varios patógenos del suelo y también permite incorporar ciertas características productivas al cultivo (Privitera y Siviero, 1999). Los principales objetivos del uso de plántula injertada son: 1) resistencia a enfermedades ocasionadas por patógenos con origen en el suelo, 2) incremento de rendimiento y calidad y 3) mejorar la fisiología de las plantas a una adaptación mayor a ambientes desfavorables (Kubota *et al.*, 2008). Sin embargo, el uso de portainjertos con resistencia a ciertos patógenos y otro tipo de estrés biótico puede tener un impacto negativo, neutro o positivo en el rendimiento aun en ausencia del patógeno o estrés biótico (Louws *et al.*, 2010)

Entre las especies hortícolas, sólo se injertan en el ámbito comercial solanáceas (tomate, pimiento, berenjena) y cucurbitáceas (melón, sandía y pepino) (González, 1999), aunque existen estudios sobre injertos en crucíferas (Oda y Nakajima, 1992). En la década de 1990, 59 % de la producción en Japón (melón, sandía, pepino, tomate y berenjena) y 81 % en Corea se realizaba con plántulas injertadas (Lee, 1994; Lee y Oda, 2003). Lee (1994) reportó 337 millones de plántulas injertadas anualmente en Corea, 651 millones en Japón (campo abierto e invernaderos). Más del 95 % de las sandías en ambos países son injertadas. La mayoría de los pepinos en invernadero son injertados y a campo abierto de 10 a 30 %. Para 2005 en Japón se injertaban 500 millones de plántulas anualmente (Kobayashi, 2005). En España se iniciaron los experimentos de injerto de sandía y tomate en el período 1975-1980 y fue a finales de los 80´s cuando la técnica se extendió en el cultivo de sandía y a mediados de los 90´s en tomate. En este país en 2005 se injertaron 30 millones de plantas de sandía, que representan más de 90 % de las plantas que se utilizan en las zonas de Almería, Murcia y Valencia. En Francia se cultivaron 1000 ha de melón injertado y 30 % del tomate que se cultiva en invernadero que corresponde a 1 200 ha, aun cuando gran parte se cultiva sobre sustrato. En Italia se injertaron entre 4 y 5 millones de plántulas de melón, 20 millones de plántulas de tomate y 20 millones de plántulas de sandía. Finalmente, en Marruecos 50 % (20 millones de plántulas) de la superficie de tomate para exportación se estableció con plántulas injertadas (De Miguel y Cebolla, 2005).

En México existe poca información sobre el uso del injerto en hortalizas por ser una técnica a nivel comercial de reciente introducción, Kubota *et al.* (2008), reportan para el año 2002, 40 millones de plántula de jitomate injertada en Estados Unidos y 500 ha en México, 13.5 millones de plántulas aproximadamente.

Actualmente no existen variedades comerciales de chile manzano con resistencia a *P. capsici*, pero si técnicas para ayudar a los productores en su manejo y evitar el uso indiscriminado de fungicidas. Como alternativa de manejo, hoy en día se tiene al portainjerto serrano "Criollo de Morelos 334" (CM-334), considerado como el resistente universal a *P. capsici* (Oelke *et al.*, 2003). Como centro de origen del chile, México posee germoplasma con potencial genético para este propósito. El "Criollo de Morelos 334" (CM-334) es resistente a *P. capsici* (Guerrero-Moreno y Laborde, 1980), así como las accesiones BG 102 y BG 107, con la misma procedencia del estado de Morelos, demostraron resistencia a *P. capsici* y a la inoculación en mezcla de *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* spp y *P. capsici* (Anaya-Lopez *et al.*, 2011). Las accesiones mexicanas PI 201237 y PI 640532, fueron descritas por Candole *et al.* (2010) como resistentes a seis aislados de *P. capsici*. Las accesiones de *Capsicum annuum* CM-334 tienen una alta resistencia a *P. capsici* y ha sido utilizado en diversos estudios de resistencia genética (Guerrero-Moreno y Laborde, 1980; Bosland y Lindsey, 1991; Walker y Bosland, 1999; Morra y Bilotto, 2006; Ousmane y Bosland, 2005; Tahboub *et al.*, 2008). CM-334 ha sido utilizado como portainjerto en la producción de planta injertada de pimiento morrón (Morra y Bilotto, 2006; Martínez, 2013) y chile ancho (García-Rodríguez *et al.*, 2010).

El chile tipo serrano "Criollo de Morelos 334" (CM-334) es una de las más eficaces fuentes de resistencia genética a *P. capsici.* Sin embargo, aunque la resistencia a *P. capsici* es de carácter dominante (Egea *et al.*, 2008), su herencia es compleja debido a su naturaleza poligénica y a la probable existencia de efectos epistáticos (Minamiyama *et al.*, 2007). Por ello no se han generado cultivares de chile comerciales

con una adecuada resistencia a este patógeno. En este sentido, el injerto es una alternativa que permite usar variedades resistentes a *P. capsici* para la producción de chile, eludiendo la dificultad de incorporar genéticamente esta característica a las variedades productivas.

En México el uso de planta injertada de chile manzano sobre el chile serrano "Criollo de Morelos CM-334" podría ser una alternativa viable en la producción de este cultivo. Ya que el principal problema en las zonas de producción a campo abierto o en invernadero con planta cultivada en suelo es precisamente la secadera del chile, para la cual aún no se cuenta con variedades mejoradas con resistencia genética, por lo que la presente investigación se dividió en dos etapas, en la primera se estableció una metodología de injerto en cámara de curado y otra *in vitro* para el chile manzano sobre el portainjerto CM-334, con la finalidad de comparar ambas metodologías; estudiar su compatibilidad al evaluar porcentajes de prendimiento y el desarrollo estructural de la zona de unión del injerto. La segunda etapa fue para evaluar los efectos del injerto en las variables de rendimiento y calidad de fruto, también se evaluó el efecto de niveles de poda de ramas en plantas injertadas, y se obtuvo el porcentaje de colonización de hongos arbusculares en raíces de plantas de chile manzano injertadas y, manejadas con tezontle y composta como sustrato.

CAPÍTULO I. SINCRONIZACIÓN, COMPATIBILIDAD Y ANATOMÍA DEL CHILE MANZANO INJERTADO SOBRE CHILE SERRANO "CRIOLLO DE MORELOS 334"

CHAPTER I. SYNCHRONIZATION, COMPATIBILITY AND ANATOMY OF MANZANO HOT PEPPER GRAFTED ONTO SERRAN "LANDRACE FROM MORELOS CM-334" PEPPER

Estela **Martínez Soriano**[1] **y** Mario **Pérez Grajales**[2]

RESUMEN

Este trabajo se enfocó en el establecimiento de metodologías de injerto de chile manzano (*Capsicum Pubescens* R. y P.) sobre el portainjerto serrano "Criollo de Morelos CM-334" (*Capsicum annuum*) resistente a *Phytophthora capsici*, bajo condiciones de cámara de curado e *in vitro* y estudiar su compatibilidad. El proceso de injertación de chile manzano sobre CM-334, desde la siembra hasta aclimatación de plantas injertadas tuvo una duración de 89 días y 90.9 % de prendimiento en cámara de curado, mientras que *in vitro* este proceso duró 64 días con un 55.3 % de prendimiento. A partir de injertos obtenidos en cámara de curado se realizaron cortes anatómicos y se observó la proliferación de células de callo y el depósito de nuevo xilema y floema a los 13 días después de injertar. A los nueve meses después del trasplante de los injertos a invernadero se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el diámetro del sitio de unión de plantas injertadas y el tallo de plantas sin injertar con un promedio de 26.1250 **y** 18.6375 mm, respectivamente. La combinación de chile manzano y el portainjerto CM-334 presentó compatibilidad.

PALABRAS CLAVE: *Phytophthora capsici*, *Capsicum pubescens*, CM-334, injerto, resistencia a enfermedades.

ABSTRACT

This research was focused on establishing methodologies for grafting manzano hot pepper (*Capsicum pubescens* R. y P.) onto serrano "Landrace from Morelos CM-334" (*Capsicum annuum*) rootstock resistant to *Phytophthora capsici*, under curing chamber and *in vitro* conditions to study their compatibility. The process of grafting manzano hot pepper onto CM-334, from sowing to acclimation of grafted plants took 89 days and a 90.9 % of survival was obtained in curing chamber, while in vitro it took 64 days with a 55.3 % of survival. Anatomic cuts were made from grafts taken from the curing chamber and 13 days after the grafting a callus cell proliferation and deposition of new xylem and phloem were observed. Nine months after the grafts had been transplanted to the greenhouse statistically significant difference was found between the diameter from the union point on grafted plants and the stem of non-grafted plants with an average of 26.1250 and 18.6375 mm, respectively. The combination of manzano hot pepper and the CM-334 rootstock showed compatibility.

KEY WORDS: *Phytophthora capsici*, *Capsicum pubesces*, CM-334, graft, disease resistance.

---

[1] Autora de la tesis/ Graduated student

[2] Director de tesis/ Thesis advisor

1. INTRODUCCIÓN

En México la producción de chile es de gran importancia económica y social, la rentabilidad del cultivo depende de factores bióticos y abióticos, siendo los últimos los que más impactan en el rendimiento, entre los que destaca la marchitez o secadera del chile (*Phytophthora capsici*); este es uno de los patógenos más devastadores para el cultivo del chile y puede causar pérdidas de hasta el 100 % cuando las condiciones ambientales son favorables (Stevenson, 2001) y se tiene exceso de humedad en el suelo, temperaturas de 10 a 30 °C, con óptimas de 24 a 26 °C y si no se realiza ningún método de control oportuno (González *et al*., 2004). Entre los métodos alternativos para controlar *P. capsici* destaca el injerto sobre portainjertos resistentes (Santos y Goto, 2004), cuyo uso ha aumentado debido a su eficacia e inocuidad para el ambiente. En Corea se injertaron cerca de 6 millones de plantas de chile para controlar este patógeno (Lee y Oda, 2003).

Sy y colaboradores (2005) sugieren que en el portainjerto serrano "Criollo de Morelos 334" existen tres genes de resistencia a *P. capsici* que de manera independiente comandan la resistencia a este patógeno, encontrándose estos en la raíz, tallo y follaje. CM-334 también es altamente resistente a potyvirus y a las tres principales especies del nemátodo agallador de la raíz: *Meloidogyne arenaria, M. incognita y M. javanica* (Pegard *et al*., 2005); sin embargo, es susceptible al nemátodo *Nacobbus aberrans* (Godínez *et al*., 2008; López *et al*., 2010) y cuando las plantas son infectadas por el nemátodo previo a la inoculación con *P. capsici*, estas son susceptibles al oomiceto, un fenómeno conocido como "rompimiento de resistencia" (Vargas *et al*., 1996; Trujillo-Viramontes *et al*., 2005).

Las accesiones de *Capsicum annuum* CM-334 tienen una alta resistencia a *P. capsici* y ha sido utilizado en diversos estudios de resistencia genética (Guerrero-Moreno y Laborde, 1980; Bosland y Lindsey, 1991; Walker y Bosland, 1999; Ousmane y Bosland, 2005; Morra y Bilotto, 2006; Tahboub *et al*., 2008). CM-334 ha sido utilizado como portainjerto en la producción de planta injertada de pimiento morrón (Morra y Bilotto, 2006 y Martínez, 2013) y chile ancho (García-Rodríguez *et al*., 2010).

La técnica de injerto consiste en unir dos porciones de tejido vegetal, de manera que crezcan y se desarrollen como una sola planta, generándose en la combinación estiónica pie – injerto una interacción que puede afectar tanto el crecimiento como la productividad (Hartmann y Kester, 1988). Antes que se inicie una operación de injerto, se debe determinar si las plantas que se van a combinar tienen capacidad para unirse y producir una unión que tenga éxito. No existe ninguna regla definida para predecir el resultado final de una combinación en injerto específica, excepto que "entre más relación o afinidad botánica haya entre las plantas, las probabilidades de que el injerto tenga éxito son mayores" (Hartmann y Kester, 1988). De acuerdo con Garner (1983), el éxito en la formación de la unión permanente entre plantas o partes de plantas depende de dos cosas: de la próxima relación botánica o afinidad, a menudo denominada compatibilidad entre los sujetos unidos, y del contacto entre cambiums u otros tejidos meristemáticos. De acuerdo con Boutherin y Bron (1994), la capacidad de dos plantas diferentes de unirse y desarrollarse satisfactoriamente como una planta compuesta es lo que se llama compatibilidad. Para que un injerto resulte compatible, necesita que ocurran tres eventos en su desarrollo: cohesión del portainjerto y el injerto, proliferación de las células del callo y rediferenciación vascular (Flores-Vindas, 1999).

Durante el proceso de injertación, un corte exacto realizado en ambas porciones del injerto acelera la formación de la conexión cambial; en cambio cortes mal realizados, con herramienta inexacta o con mala técnica no impiden necesariamente la unión, pero normalmente la retardan (Esau, 1985).

En el ambiente climático y pedológico en el cual se practica el injerto y se cultivan las pantas injertadas, influyen principalmente, la temperatura, el estado higrométrico y la aireación del ambiente (Climet, 1985; Hartmann y Kester, 1988). La temperatura tiene un marcado efecto sobre la formación de tejido de callo, entre 4 °C y 32 ºC la producción de callo aumenta linealmente con la temperatura. Con más de 29 ºC se obtiene una producción abundante de tejido de callo de tipo suave que se daña fácilmente con las operaciones de plantación. A menos de 20 ºC la producción de callo es lenta y por debajo de 15 ºC no existe (Hartmann *et al.*, 1990). En lo que respecta a la humedad, las células de parénquima que forman el tejido del callo son de paredes delgadas y muy sensibles a la deshidratación, si se exponen al aire. Los contenidos de humedad del aire menores al punto de saturación, inhiben la formación de callo y aumentan la tasa de desecación de las células cuando disminuye la humedad. La presencia de una película de agua sobre la superficie de encallecimiento es más estimulante para la cicatrización que mantener al 100 % la humedad relativa. Las células muy turgentes son más capaces de dar un callo abundante que aquellas que están en condiciones de marchitez (Hartmann y Kester, 1988). Por otra parte, debido a que la unión del injerto es un proceso en el cual se produce una división y crecimiento celular importante, acompañado de una respiración celular elevada, el oxígeno es

altamente necesario para su optimización, por esto es importante que la ligadura del injerto permita el acceso de aire en la zona de unión (Hartmann *et al*., 1990).

Este estudio planteó establecer una metodología de injertación en cámara de prendimiento e *in vitro* para estudiar la compatibilidad de planta de chile manzano injertado sobre CM-334, al determinar su prendimiento y observar el desarrollo de la zona de unión del injerto a nivel histológico y en la morfología de tallo.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Injerto realizado en cámara de curado

2.1.1 Localización del sitio experimental

La producción de plántula y el proceso de injertación se realizaron en un invernadero ubicado en el Campo Experimental del Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo, situado en las coordenadas 19° 29’ LN y 98° 53’ LO, a una altitud de 2 250 msnm.

2.1.2 Producción de plántula

Los materiales utilizados fueron la variedad Grajales St. de chile manzano como injerto y el genotipo CM-334 como portainjerto. Las semillas del material utilizado como injerto se sembraron en charolas de poliestireno de 200 cavidades y las semillas del material que sirvió como injerto se sembraron en charolas de poliestireno de 60 cavidades, el sustrato utilizado en ambos casos fue peat-moss. Se utilizaron charolas de 60 cavidades para tener más espacio y de esta manera facilitar la manipulación del material vegetal al momento de realizar el injerto. Con la finalidad de conservar la humedad y una buena temperatura para acelerar el proceso de germinación, las charolas fueron envueltas con plástico lechoso durante los 7 días posteriores a la siembra.

2.1.3 Pruebas de germinación y sincronización de la plántula para la injertación

Para determinar el porcentaje de germinación y los días hasta la germinación de la semilla, se realizaron pruebas con 100 semillas de cada material.

$$\textit{Porcentaje de germinación} = \frac{\text{No. de semillas sembradas} * 100}{\text{No. de semillas germinadas}}$$

También se determinó en ambos materiales los días que tardaron en alcanzar un diámetro de 1.5 a 1.8 mm en el tallo, a una distancia de 1.5 cm por arriba de los cotiledones. El número de días transcurridos en que habían germinado al menos el 80 % de las plántulas se registró como el tiempo que tardan las semillas en germinar. Así mismo, el número de días transcurridos en los que al menos el 80 % de las plántulas habían alcanzado un diámetro de tallo de 1.5 a 1.8 mm se registró como el tiempo que tardan las plántulas en alcanzar el diámetro recomendado para ser injertadas.

2.1.4 Proceso de injertación

Una vez sincronizadas las plántulas de la variedad Grajales St. y el serrano "Criollo de Morelos 334", el 16 de abril de 2013 se realizó el injerto de ambos materiales. Los dos días previos a la realización del proceso de injertación se suspendió el riego y se realizó la aplicación dirigida al follaje de 100 $mg \cdot L^{-1}$ de ácido ascórbico. El método de injerto utilizado fue el de "empalme" con pinza de plástico, basada en la descripción hecha por Palada y Wu (2008), con algunas modificaciones:

1. Seleccionar el injerto y el portainjerto con un diámetro de tallo igual (1.5-1.8 mm) (Figuras 1A y 1B).
2. Cortar el tallo del portainjerto con un ángulo de 45°; 1.5 cm arriba de los cotiledones, procurando que el diámetro del tallo del injerto coincida con el del portainjerto (Figura 1C).
3. Colocar la pinza de plástico de 1.6 mm de diámetro en el tallo del portainjerto hasta la mitad de su longitud dejando espacio para que el injerto sea colocado justo arriba del tallo del portainjerto (Figura 1D).
4. Deslizar el tallo del injerto en la pinza de plástico hasta empalmarlo con el tallo del portainjerto, procurando que los cortes se mantengan paralelos, entonces se

puede estar seguro de que los dos tallos están en contacto. La pinza de plástico permanece en la planta hasta que esta forme callo natural (Figura 1F).

5. Aplicar 100 $mg \cdot L^{-1}$ de ácido ascórbico vía foliar para promover el prendimiento del conjunto portainjerto-injerto (Johkan *et al*., 2008).
6. Mover inmediatamente las plantas injertadas a la cámara de curado para asegurar las condiciones de temperatura (25±5 °C) y humedad relativa (>95 %) ideales. Los primeros dos días, mantener obscuridad total dentro de la cámara de curado con la ayuda de capas adicionales de polietileno negro colocado sobre las paredes y techo de la misma (Figura 1E).
7. Al tercer día después de injertar (ddi), incrementar la intensidad luminosa al retirar gradualmente las capas de polietileno negro de las paredes y techo (Figura 1G).
8. Al décimo día ddi, comenzar a disminuir gradualmente la humedad relativa hasta alcanzar un valor de humedad relativa igual al que prevalece fuera de la cámara de curado; es decir al interior del invernadero.
9. Al veinteavo día ddi, mover las plántulas al invernadero protegiéndolas con una malla de sombreo para disminuir la intensidad luminosa (Figura 1H).
10. A los siete días posteriores retirar la malla de sombreo y mantener esta condición tres días más antes de realizar el trasplante (Figura 1I).

Figura 1. Proceso de injertación de chile manzano (*Capsicum pubescens* R. y P.) sobre chile serrano CM-334 (*Capsicum annuum*) en cámara de curado, injerto tipo empalme con grapa de plástico. A y B) Plantas de chile manzano y CM-334 con el mismo diámetro de tallo. C) Corte de 45° en tallos del injerto y portainjerto. D) Colocación de pinza de plástico y empalme del injerto y portainjerto. E y G) Cámara de prendimiento con baja y alta luminosidad. F) Planta injertada en cámara de prendimiento. H) Acondicionamiento de planta injertada. I) Planta lista para trasplante.

Además del invernadero utilizado para la germinación de la semilla, se utilizó una cámara de curado (cámara de prendimiento) para asegurar las condiciones necesarias de temperatura (alrededor de 25 °C) y humedad relativa (arriba de 90 %) para tener éxito en el prendimiento. Las paredes y piso de la cámara de curado fueron desinfectadas con una aplicación de sanitizante a base de cuaternario de amonio y sulfato de cobre Anibac Plus ® (Ultraquimia Agrícola, México) con una dosis de 20 $ml \cdot L^{-1}$ de agua. La cámara de curado, ubicada dentro de un invernadero de polietileno con ventilación cenital, contó con un sistema de microaspersores, accionados durante 2 minutos cada 5 minutos, mediante una bomba de 0.5 HP y un cortador eléctrico que se mantuvo encendido durante dos minutos cada cinco minutos en el periodo en que las temperaturas eran más elevadas durante el día (11:00-17:00). Durante el tiempo que la planta injertada estuvo en la cámara de curado, permaneció cubierta con una capa de Ground Cover blanco para evitar que el agua cayera directamente sobre ella.

Para determinar los días necesarios para la sincronización de plántula y la obtención de planta injertada, el día 1 (18 de febrero de 2013) se sembró la variedad Grajales St. de chile manzano (injerto), la semilla de este material fue remojada durante la noche anterior a la siembra en una solución de ácido giberélico Gibiotín® (Biochem Systems S.A de C.V.) con una concentración de 200 ppm. El día 15 (5 de marzo de 2013) después de la siembra (dds) se sembró el CM-334 (portainjerto). Al octavo día después de la siembra germinó el CM-334 y al doceavo día el chile manzano. El chile manzano y el CM-334 alcanzaron un diámetro de tallo de 1.5-1.8 mm a 1.5 cm por arriba de los cotiledones a los 55 y 40 dds, respectivamente (14 de abril de 2013). Se aplicó ácido ascórbico vía foliar durante los dos días siguientes y el día 16 de abril a partir de las 16:00 horas se realizó el proceso de injertación, las plantas injertadas se colocaron en la cámara de curado con las condiciones ambientales ya mencionadas.

Durante los tres días después de la injertación se mantuvo obscuridad total dentro de la cámara de curado. Las plantas injertadas se mantuvieron turgentes al momento de la injertación; sin embargo, al día siguiente el 9 % de las plantas mostraron marchitez desde la base de la unión del injerto hasta el ápice, el 91 % de las plantas restantes se mantuvieron turgentes durante su estancia en la cámara de curado, ya que a pesar de que la radiación fotosintéticamente activa (RFA) se incrementó gradualmente al retirar la sombra artificial de la cámara, se mantuvo una alta humedad relativa.

El día diez después de realizar el injerto, se comenzó a disminuir la humedad relativa, los nebulizadores se prendieron por menor tiempo hasta llegar a predominar una humedad relativa del 50 %, al llegar al día veinte la planta injertada fue sacada de la cámara de curado y colocada en condiciones de invernadero, bajo sombra ligera, el 91 % de las plantas injertadas permanecieron turgentes. El día veintitrés después de realizar el injerto, la sombra ligera fue retirada de la planta injertada, exponiéndola finalmente a las condiciones predominantes dentro del invernadero; es decir 239-358 µmol $m^{-2}s^{-1}$ de radiación fotosintéticamente activa, 65 % de humedad relativa y 10-40 °C. El día treinta y uno después de la injertación, la planta injertada fue llevada al invernadero de chile manzano, en el que se tenía de 23-80 % de humedad relativa y temperaturas de 7-35 °C, ahí permanecieron hasta su trasplante y durante este periodo fue regada con solución nutritiva de Steiner al 50 % (Figura 2).

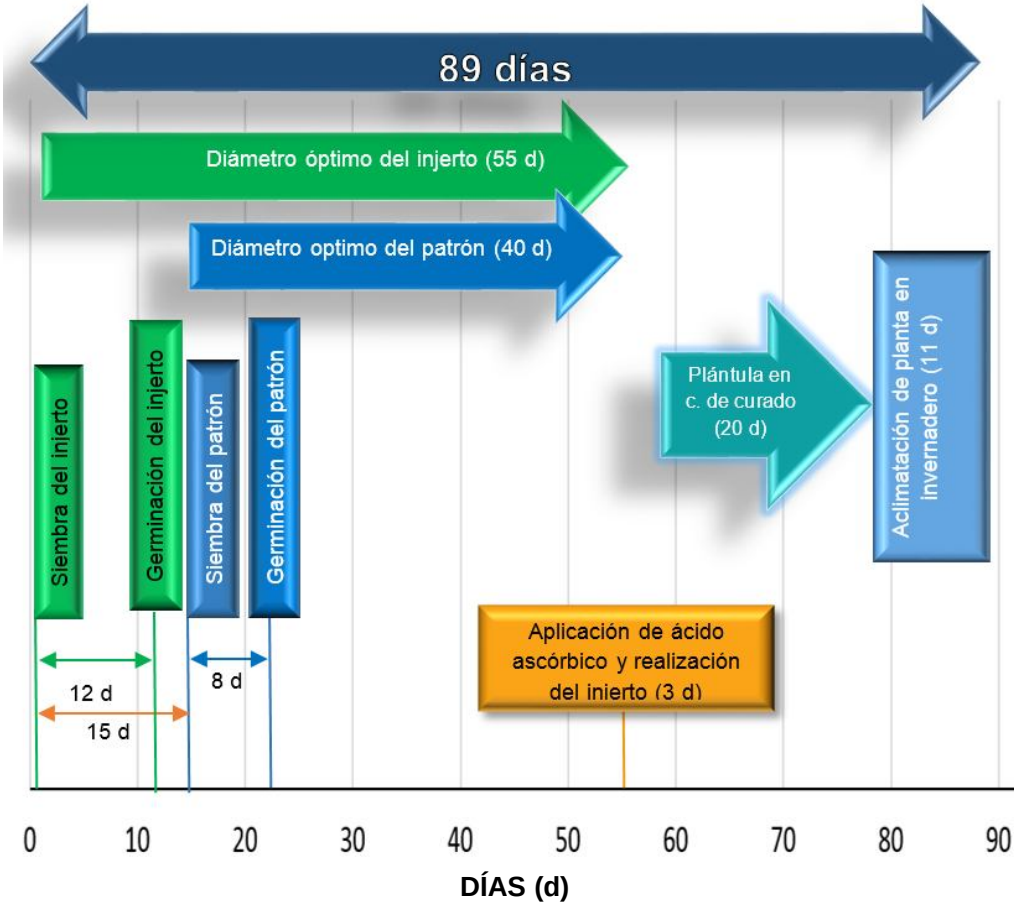

Figura 2. Esquema del proceso de injertación de chile manzano sobre CM-334 (procedimiento en cámara de curado). Sincronización de plántula, injerto y acondicionamiento.

Porcentaje de prendimiento

Se contabilizó el número de plantas turgentes a los 20 días después de haber realizado el injerto. Se injertaron 77 plantas de la variedad Grajales St. de chile manzano sobre el portainjerto serrano CM-334. Se registró el porcentaje de prendimiento.

$$\textit{Porcentaje de prendimiento} = \frac{\text{No. de plantas turgentes} * 100}{77}$$

2.1.5 Anatomía del tallo en el proceso de prendimiento de la plántula injertada

Se realizaron cinco muestreos para la evaluación de la anatomía de los tejidos vasculares, a los 5, 9, 13, 17 y 21 días después de la injertación (ddi). Se muestrearon 8 plántulas por cada fecha, haciendo un total de 40 plantas muestreadas. De cada planta se obtuvo un tramo de tallo del punto de unión del injerto, de una longitud de alrededor de 8 mm. El material muestreado fue inmediatamente fijado en una solución formaldehído-alcohol-ácido acético (50 % etanol 96° + 5 % ácido acético glacial + 10 % formaldehído de 40 % de pureza + 35 % agua destilada) durante una semana y posteriormente se transfirieron a una solución fijadora glicerol-alcohol-agua destilada (25 % glicerol + 50 % etanol 100° + 25 % agua destilada + 0.0002 fast green), donde permanecieron hasta el momento de procesar el tejido vegetal muestreado.

Dos semanas después del último muestreo, el tejido vegetal fue colocado en un procesador automático de tejidos Histokinette Leica® modelo 2000 (Alemania) para su deshidratación, trasparencia e inclusión en parafina (Cuadro 1).

Cuadro 1. Cronograma para la deshidratación, transparencia e inclusión en parafina del tejido vegetal muestreado (zona de unión del injerto de chile manzano sobre CM-334), en un procesador de tejidos automático (Histokinette Leica® Mod. 2000).

Proceso	Reactivo	Tiempo
Deshidratación	1.- Etanol 50 %	4 horas + 48 minutos
	2.- Etanol 70 %	4 horas + 48 minutos
	3.- Etanol 96 %	4 horas + 48 minutos
	4.- Etanol 96 %	4 horas + 48 minutos
	5.- Etanol 100 %	4 horas + 48 minutos
	6.- Etanol 100 %	4 horas + 48 minutos
Transparentación	7.- Etanol 100 % + xileno 100 %	4 horas + 48 minutos
	8.- Xileno 100 %	4 horas + 48 minutos
	9.- Xileno 100 %	4 horas + 48 minutos
	10.- Xileno 100 %	4 horas + 48 minutos
Inclusión	11.- Parafina 56 °C	4 horas + 48 minutos
	12.- Parafina 56 °C	4 horas + 48 minutos

Posteriormente las muestras fueron colocadas en cubos de parafina de acuerdo con Sass (1968) y montadas en cubos de madera, se realizaron cortes transversales y longitudinales de 12 µm de espesor en un micrótomo rotatorio Leica®, modelo 820. Los cortes histológicos fueron montados en portaobjetos, utilizando como base el adhesivo de Haupt y formol al 10 %. La tinción de tejidos se realizó siguiendo el procedimiento para tinción con safranina y fast green (Cuadro 2), de acuerdo con la metodología de Sass (1968). Finalmente, las preparaciones fueron depositadas en el horno de secado a una temperatura de 45 °C durante 72 horas.

Cuadro 2. Procedimiento para la tinción con safranina y fast green de los cortes anatómicos de la zona de unión del injerto de chile manzano sobre CM-334.

Solución	**Tiempo (min)**
1.- Xileno	3
2.- Xileno	3
3.- Xileno	3
4.- Etanol 100 %	3
5.- Etanol 96 %	3
6.- Etanol 70 %	3
7.- Etanol 50 %	3
8.- Safranina	20
9.- Agua de la llave	Enjuagado
10.- Etanol 50 %	0.5
11.- Etanol 70 %	0.5
12.- Etanol 96 %	0.5
13.- Etanol 100 %	0.5
14.- Fast green	15
15.- Etanol 100 %	0.5
16.- Xileno 100 %	3
17.- Xileno 100 %	3
18.- Xileno 100 %	3
19.- Poner bálsamo de Canadá y cubreobjetos	

Los cortes histológicos del sitio de la unión portainjerto-injerto fueron observados y fotografiados en el Centro de Fitopatología del Colegio de Posgraduados, mediante microscopios estereoscópico y compuesto Carl Zeiss (Alemania) modelo 68020.

2.1.6 Morfología del tallo

Para conocer el efecto del injerto en el diámetro de tallo de plantas injertadas en producción, se establecieron plantas injertadas y sin injertar en invernadero, el trasplante se realizó en bolsas de polietileno negro de 50 x 50 cm rellenas con tezontle rojo nuevo hasta la mitad y en la parte superior una mezcla de tezontle rojo nuevo y composta en proporción 2:1. El sistema de riego fue localizado con el uso de cintilla y distribuidores de cuatro salidas, con goteros con estaca y microtubin, para los riegos se utilizó la solución nutritiva de Steiner al 50 %.

Para el establecimiento del experimento se utilizó un diseño completamente al azar con 40 repeticiones y la unidad experimental fue una planta. Los tratamientos fueron los siguientes:

T1: plantas de chile manzano injertadas sobre CM-334

T2: plantas de chile manzano sin injertar

Se midió el diámetro de tallo en la zona de unión del injerto, en el caso de las plantas no injertadas se midió a una distancia de 3 cm de la base del tallo. Las mediciones se tomaron en dos fechas, a los 6 y 9 meses después del trasplante.

También se midió el diámetro de tallo en plantas injertadas a los dos centímetros superiores e inferiores (injerto y portainjerto) de la zona de unión del injerto, con la

finalidad de conocer su variación respecto al diámetro promedio de la zona de unión del injerto.

2.2 Injerto realizado *in vitro*

2.2.1 Localización del sitio experimental

El procedimiento de injertación se realizó en el Laboratorio de Cultivo de Células y Tejidos Vegetales del Departamento de Fitotecnia, en la Universidad Autónoma Chapingo, Texcoco, Estado de México. Donde se realizó desde la siembra del portainjerto CM-334 (*Capsicum annuum* L.) y el injerto (*Capsicum pubescens* R. y P.) hasta el principio del proceso de aclimatación de la planta injertada.

2.2.2 Producción de plántula

2.2.2.1 Porcentaje de germinación de acuerdo al método de siembra

Para elegir el método de siembra del portainjerto CM-334 y el injerto chile manzano, se utilizó un medio de cultivo base con las sales inorgánicas de Murashige y Skoog (1962), suplementadas con tiamina (0.4 $mg \cdot L^{-1}$), myo-inositol (100 $mg \cdot L^{-1}$), 3 % de sacarosa y 7 $g \cdot L^{-1}$ de agar. El pH del medio fue ajustado a 5.7± 0.1.

Los métodos de siembra probados para ambos materiales fueron: semilla cubierta por el medio de cultivo (sc) y semicubierta por el medio de cultivo (ss). Antes de la siembra en medio de cultivo, las semillas fueron sometidas a un proceso de desinfección. Los materiales fueron sembrados en tubos de ensaye con 20 ml de medio Murashige y Skoog (MS), en cada tubo se colocaron tres semillas, teniendo un total de 15 semillas en 5 tubos por cada método de siembra para cada material. Después de realizar la siembra los tubos con los explantes fueron colocados durante 5 días en una incubadora con oscuridad total y temperatura de 24.5 °C; posteriormente se transfirieron a

condiciones de 16 horas luz, luminosidad de 8000 luxes y temperatura de 26 °C. Se obtuvo el porcentaje de germinación para cada método de siembra y el que tuvo mejores resultados fue utilizado para las siguientes siembras de material vegetal.

$$\textbf{\textit{Porcentaje de germinación}} = \frac{\text{No. de semillas sembradas} * 100}{\text{No. de semillas germinadas}}$$

2.2.2.2 Evaluación de reguladores de crecimiento

Con la finalidad de encontrar un medio de cultivo adecuado que proporcionara las mejores condiciones para el crecimiento y desarrollo de las plantas de chile manzano y CM-334 con fines de injertación, se evaluó el efecto de los reguladores de crecimiento benciladenina (BA) y ácido giberélico (AG_3) adicionados a un medio de cultivo base con las sales inorgánicas de MS suplementadas con tiamina (0.4 $mg \cdot L^{-1}$), myo-inositol (100 $mg \cdot L^{-1}$), 3 % de sacarosa y 7 $g \cdot L^{-1}$ de agar (Cuadro 3), con pH ajustado a 5.7± 0.1.

Cuadro 3. Tratamientos con reguladores de crecimiento utilizados para conocer su efecto en el crecimiento de plantas de chile manzano y CM-334 con fines de injertación.

Tratamiento	**Benciladenina (BA) ($mg \cdot L^{-1}$)**	**Ácido giberélico (AG_3) ($mg \cdot L^{-1}$)**
Testigo (T1)	0.0	0.0
T2	0.1	3.0
T3	0.3	1.0
T4	1.0	0.3
T5	3.0	0.1

Se evaluaron cinco tratamientos, incluyendo un testigo, cada tratamiento tuvo 15 repeticiones, la unidad experimental fue de una planta. La evaluación del efecto de BA y AG_3 en el crecimiento y desarrollo de plántulas de *C. pubescens y C annuum* con

fines de injertación se realizó en dos experimentos independientes. La variable respuesta evaluada fue la altura de la planta, medida de la base del tallo al ápice terminal.

2.2.3 Sincronización de plántula

El 21 de noviembre de 2013 se realizó la siembra de chile manzano en medio MS suplementado con vitaminas, la siembra del CM-334 se realizó una semana después. El chile manzano permaneció siete días en incubadora y el CM-334 cinco días, ambos materiales en oscuridad total y a una temperatura de 24.5 °C, para posteriormente ser transferidos a la sala de incubación de material vegetal, en condiciones de 16 horas luz, luminosidad de 8000 luxes y temperatura de 26 °C. El chile manzano y el CM-334 alcanzaron un tamaño adecuado para ser injertadas (alrededor de 1.5 mm de diámetro de tallo a 1.5 cm por arriba de los cotiledones) a los días 44 y 37, respectivamente después de la siembra, en este momento las plántulas de ambos materiales contaban con una altura de 7-8 cm de la base del tallo al ápice de la planta.

2.2.4 Proceso de injertación

Una vez que se sincronizaron las plántulas de CM-334 y chile manzano, se realizó el injerto *in vitro* de chile manzano sobre el portainjerto CM-334. El método de injerto utilizado fue el de “empalme” con pinza de plástico, basada en la descripción hecha por Palada y Wu (2008), con algunas modificaciones:

1. Seleccionar el injerto y el portainjerto con un diámetro de tallo igual (aproximadamente 1.5 mm) (Figuras 3A, 3B y 3C).
2. Cortar el tallo del portainjerto con un ángulo de 45°; 1.5 cm arriba de los cotiledones, procurando que el diámetro del tallo del injerto coincida con el del

portainjerto. Seleccionar el lugar correcto en el tallo del injerto para obtener el diámetro adecuado (Figuras 3D y 3E).

3. Colocar la pinza de plástico de 1.6 mm de diámetro en el tallo del portainjerto hasta la mitad de su longitud dejando espacio para que el injerto sea colocado justo arriba del tallo del portainjerto (Figura 3F). Las pinzas de plástico deben ser previamente esterilizadas con radiación ultravioleta durante una hora, a una potencia de 15 watts.
4. Deslizar el tallo del injerto en la pinza de plástico hasta empalmarlo con el tallo del portainjerto, procurando que los cortes se mantengan paralelos, entonces se puede estar seguro de que los dos tallos están en contacto (Figura 3G). La pinza de plástico permanece en la planta hasta que esta forme callo natural o en el momento en que el injerto sea extraído del tubo de ensaye.
5. Con ayuda de pinzas colocar la planta injertada en un tubo de ensaye con medio de cultivo nuevo, tapar y sellar con parafilm (Figura 3H).
6. Colocar las plantas injertadas en incubadora, con oscuridad total y a una temperatura de alrededor de 25 °C.
7. Al quinto día después de injertar, transferir las plantas a la sala de incubación, con condiciones de 16 horas luz, luminosidad de 8000 luxes y 26 °C.
8. Al décimo día ddi, extraer las plantas injertadas de los tubos de ensaye, eliminar de la planta los restos de medio de cultivo con fungicida y bactericida Fungimicin® a una dosis de 2 $g \cdot L^{-1}$ de agua.
9. Sembrar las plantas en recipientes con peat moss como único sustrato, colocar un tutor, cubrir con una bolsa de polietileno y sellar con una liga. Llevar las plantas a condiciones de invernadero (Figura 3I).

10. A partir del quinto día realizar tres perforaciones de 1 cm de diámetro en la bolsa de polietileno, hasta llegar a quince perforaciones por bolsa. Finalmente retirar la bolsa y trasplantar el injerto al lugar donde continuará su desarrollo y crecimiento (Figura 3J).

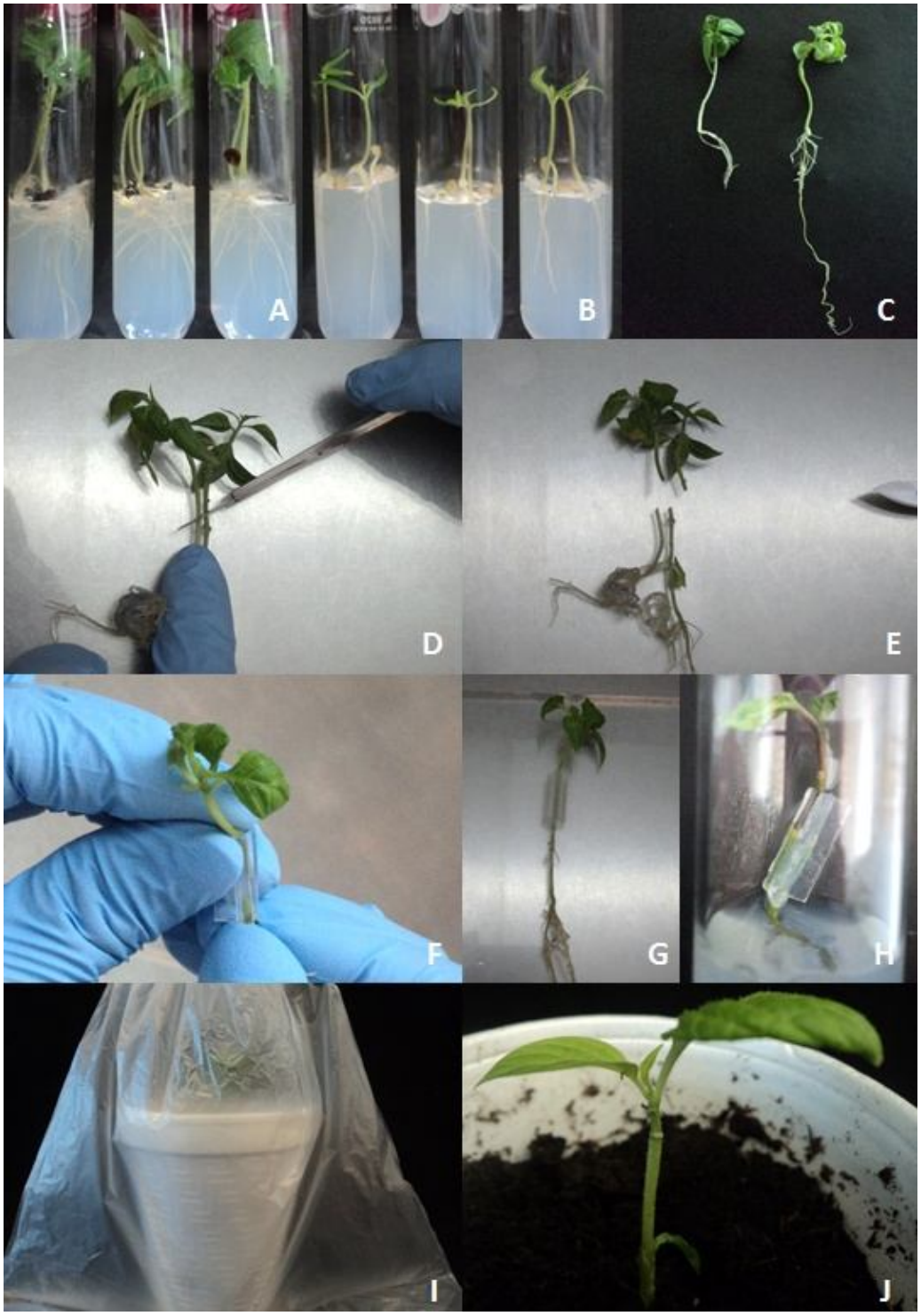

Figura 3. Proceso de injertación *in vitro* de chile manzano (*Capsicum pubescens* R. y P.) sobre el portainjerto chile CM-334 (*Capsicum annuum*), injerto tipo empalme con grapa de plástico. A, B y C) Sincronización del portainjerto e injerto. D y E) Corte trasversal a 45° en portainjerto e injerto. F y G) Colocación de grapa de plástico y empalme del injerto y portainjerto. H) Planta injertada colocada en tubo de ensaye con medio MS y adicionado con vitaminas. I) Aclimatación de planta injertada. J) Planta lista para el trasplante.

Al finalizar el proceso de injertación las plantas fueron colocadas en la incubadora en oscuridad total y con una temperatura de 24.5 °C, durante los primeros 3 días no se observó algún cambio en la turgencia del injerto de chile manzano sobre CM-334; sin embargo, entre los días 4 y 7, cuando las plantas injertadas fueron transferidas a la incubadora con una luminosidad de 8,000 luxes se contabilizaron 13 plantas marchitadas de la zona del injerto al ápice de la planta y 9 tubos de ensaye con el medio de cultivo contaminado por hongos. Se estableció un cronograma para obtener plántula injertada en condiciones *in vitro*, específicamente para el injerto de chile manzano sobre CM-334 (Figura 4).

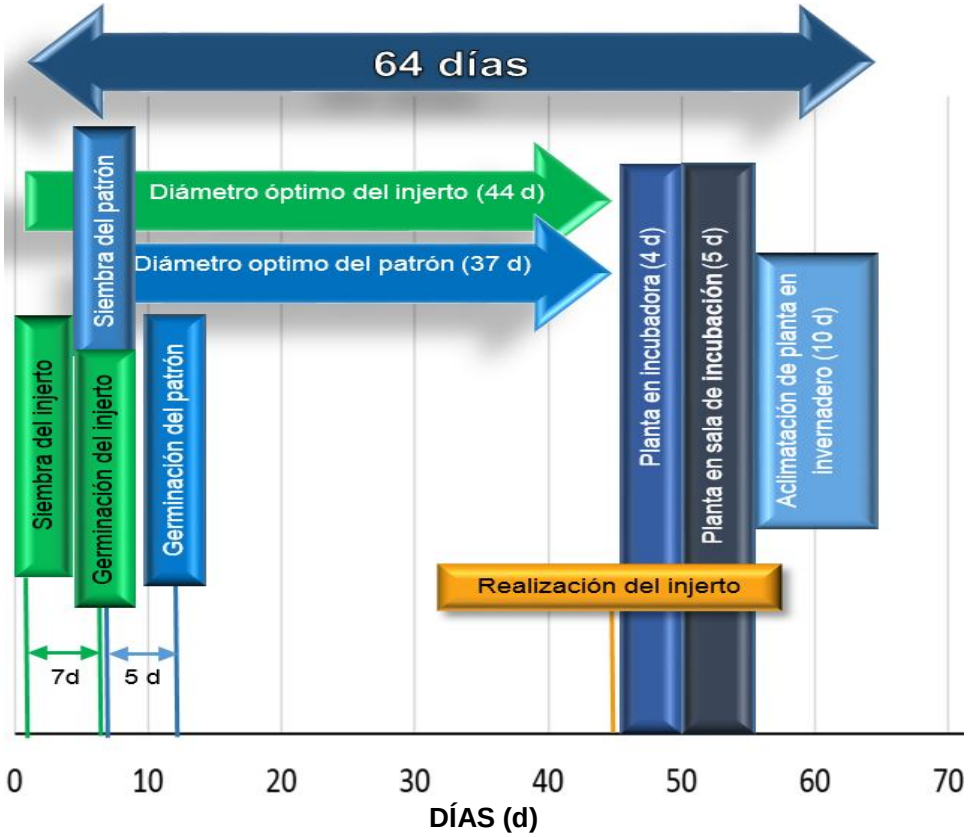

Figura 4. Esquema del proceso de injertación de chile manzano sobre CM-334 (procedimiento *in vitro*). Sincronización de plántula, injerto y acondicionamiento.

El día 20 después de la injertación se calculó el porcentaje de prendimiento del injerto realizado en condiciones *in vitro*, de un total de 64 injertos, en esta fecha se registraron 21 plantas con marchitez y 17 tubos contaminados.

$$\boldsymbol{Porcentaje\ de\ prendimiento} = \frac{\text{No. de plantas turgentes} * 100}{64}$$

2.2.5 Análisis estadísticos

El paquete estadístico SAS fue utilizado para el análisis de los efectos de los reguladores de crecimiento BA y AG_3 en las plántulas de chile manzano y CM-334; de igual manera para conocer los efectos del injerto en la morfología de tallo de plantas de chile manzano. La comparación de medias se realizó con la prueba Tukey a un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$.

3. RESULTADOS

3.1 Injerto elaborado en cámara de prendimiento

3.1.1 Porcentaje de germinación y sincronización de plántulas bajo condiciones de invernadero

El porcentaje de germinación de chile manzano variedad Grajales St. y del serrano "Criollo de Morelos 334" fue de 68 % y 98 %, respectivamente. El chile manzano germina doce días después de su siembra, mientras que el CM-334 germina a los 8 días después de la siembra. Cabe mencionar que las semillas de chile manzano fueron remojadas durante la noche anterior a la siembra en una solución de ácido giberélico Gibiotín® (Biochem Systems S.A de C.V.) con una concentración de 200 ppm, mientras que las semillas de CM-334 fueron extraídas de los frutos en el momento de la siembra. El chile CM-334 germinó primero y presentó un crecimiento mayor que el chile manzano, las plántulas de CM-334 alcanzaron un diámetro de tallo de 1.5-1.8

mm a una distancia de 1cm por arriba de los cotiledones en el día 40 a partir de la siembra, mientras que el chile manzano alcanzó tal grosor de tallo en el día 55 a partir de la siembra; por lo que, para tener planta con diámetros de tallos similares el portainjerto (CM-334) debe ser sembrado 15 días después que el chile manzano.

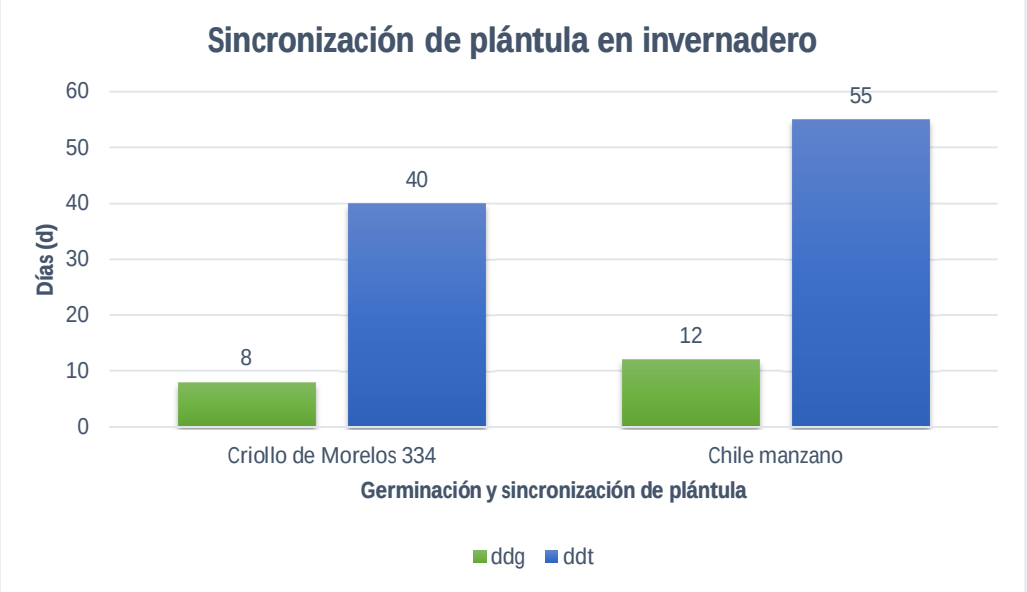

Figura 5. Días después de la germinación (ddg) y días después de que la plántula alcanza un diámetro de tallo (ddt) de 1.5 a 1.8 mm, en plantas de chile manzano variedad Grajales St. y serrano "Criollo de Morelos 334".

3.1.2 Porcentaje de prendimiento de plantas injertadas bajo condiciones de invernadero

Posteriormente al periodo de aclimatación, el día 20 después de haber realizado el injerto de chile manzano sobre CM-334, se determinó que el porcentaje de prendimiento de un total de 77 plantas, fue del 90.90 % (70 plantas), el 9.09 % restante fueron plantas que mostraron marchitez desde el primer día después del procedimiento de injertación.

La obtención de planta injertada de chile manzano variedad Grajales St. sobre el serrano "Criollo de Morelos 334", desde la siembra de semilla hasta el proceso de

aclimatación de los injertos en condiciones de invernadero para su trasplante, tuvo una duración de 89 días.

3.1.3 Anatomía de los tejidos vasculares de la plántula injertada

En el primer muestreo, realizado el día 5 después de injertar (ddi) (Figura 6), se observó una línea de células muertas en la zona del corte (Fig. 6A y 6C); estas células presentaban una coloración más oscura y aunque se esperaba que detrás de ellas en las células vivas se incrementara la actividad citoplasmática, no fue observable la formación de callo. En los cortes longitudinales se observó que el área de contacto injerto-portainjerto fue mínima (Fig. 6A y 6D).

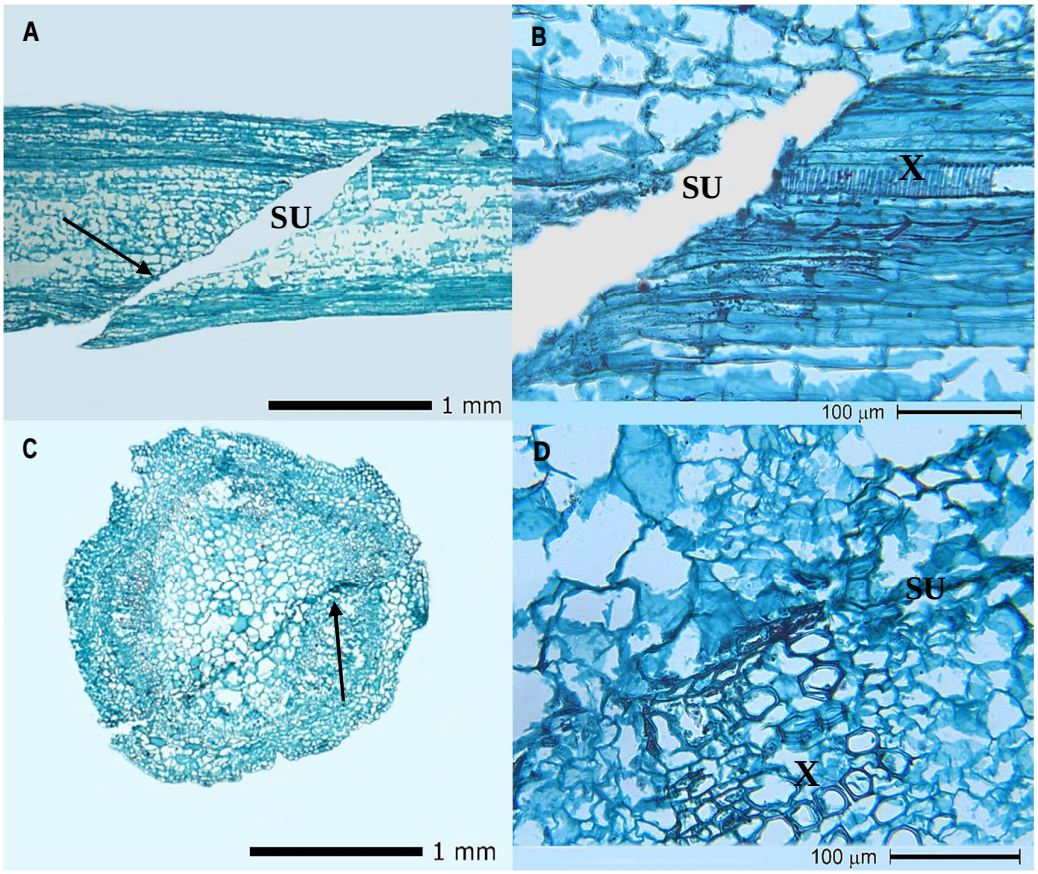

Figura 6. Primer muestreo, cinco días después de realizar el injerto. Corte longitudinal (A y B) y transversal (C y D) del sitio de unión del injerto de chile manzano sobre CM-334. X: xilema, SU: sitio de unión del injerto.

En el segundo muestreo (9 ddi) (Figura 7) se continuó observando la capa de células muertas en la zona del corte (Fig. 7A, 7C y 7D). El área de contacto entre ambos materiales fue pequeño (Fig. 7A y 7D) y los haces vasculares no coincidieron en la manera en que fueron empalmados (Fig. 7B).

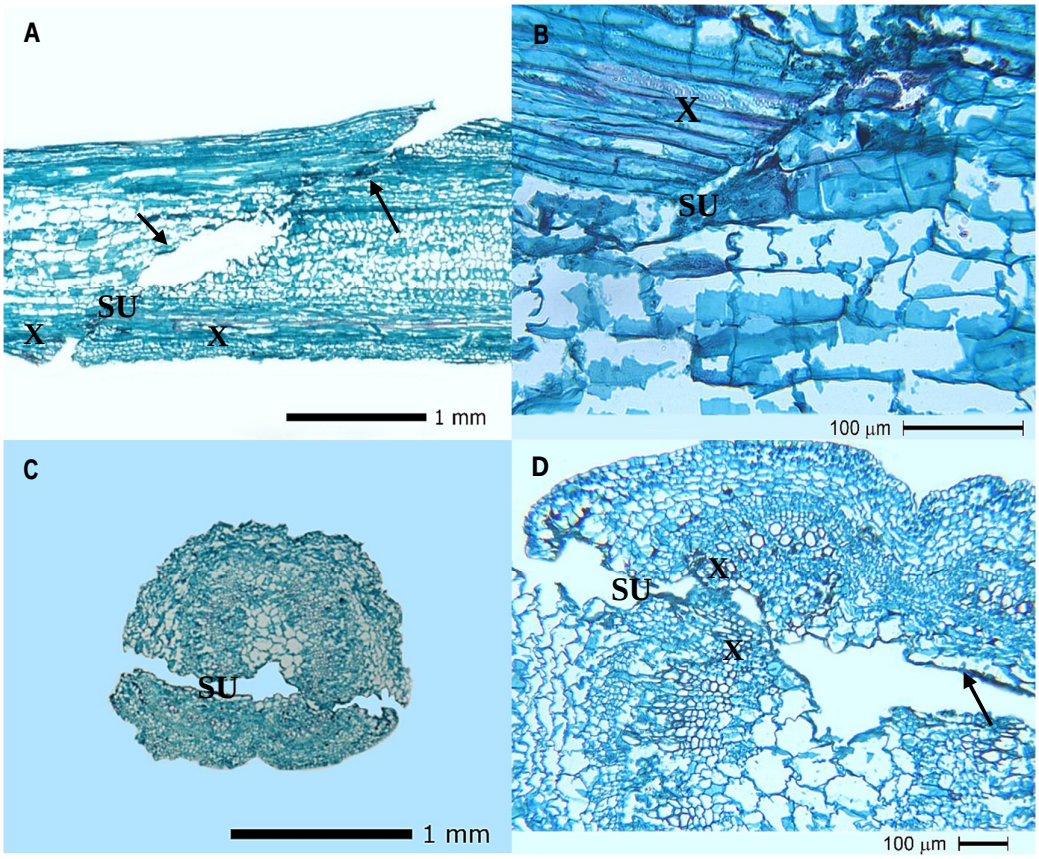

Figura 7. Segundo muestreo, nueve días después de realizar el injerto. Corte longitudinal (A y B) y transversal (C y D) del sitio de unión del injerto de chile manzano sobre CM-334. X: xilema, SU: sitio de unión del injerto.

El tercer muestreo (13 ddi) (Figura 8) permitió observar la formación de células de parénquima en un puente de callo en corte longitudinal y transversal (Fig. 8B y 8D). El puente de callo comenzó a tener actividad cambial depositando nuevo xilema y floema. Aún fue visible la cicatriz del injerto (células muertas del corte) (Fig. 8A y 8C).

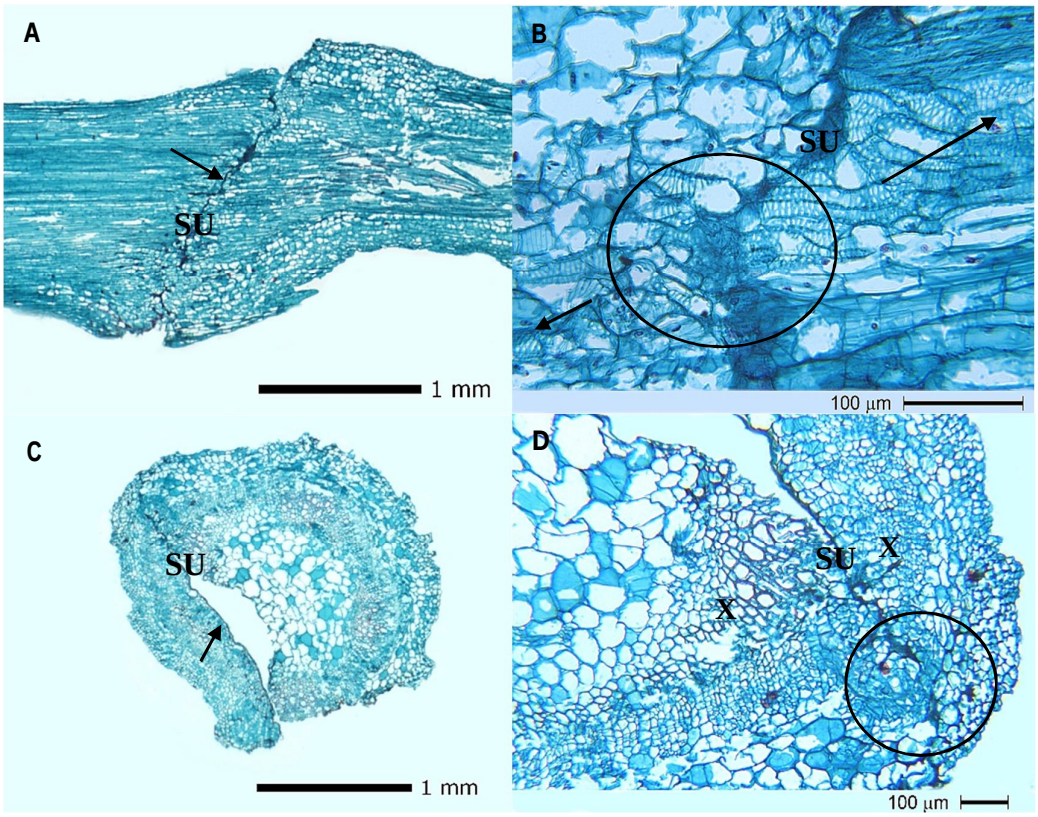

Figura 8. Tercer muestreo, trece días después de realizar el injerto. Corte longitudinal (A y B) y transversal (C y D) del sitio de unión del injerto de chile manzano sobre CM-334. X: xilema, SU: sitio de unión del injerto.

En el cuarto muestro (17 ddi) (Figura 9) los haces vasculares del injerto y portainjerto presentaron cierta curvatura para encontrarse en el sitio de unión del injerto (Fig. 9A y 9B), para entonces el área de contacto entre ambos materiales fue mayor; sin embargo, la zona más externa de los tallos aún no fue unida por la formación de callo (Fig. 9A y 9C).

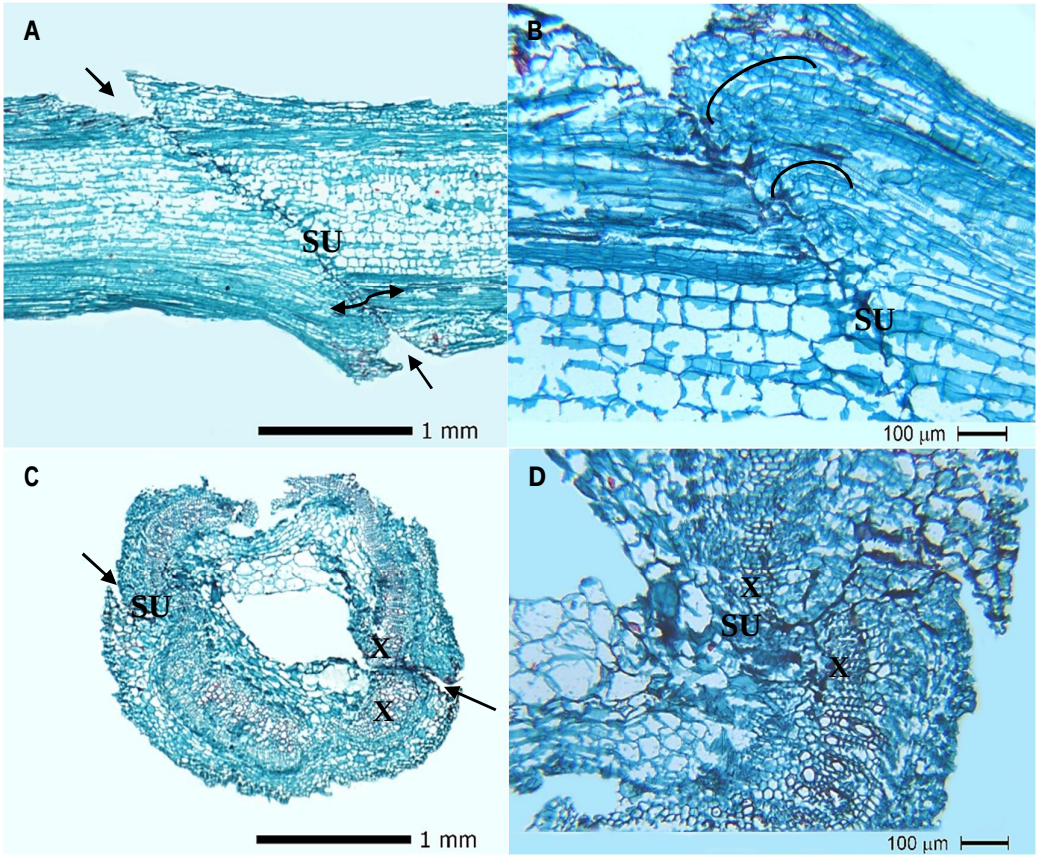

Figura 9. Cuarto muestreo, diecisiete días después de realizar el injerto. Corte longitudinal (A y B) y transversal (C y D) del sitio de unión del injerto de chile manzano sobre CM-334. X: xilema, SU: sitio de unión del injerto.

En el último muestreo (21 ddi) (Figura 10) la cicatriz del injerto sólo se observó en ciertas partes del sitio de unión de ambos materiales, la zona más externa del tallo presentó unión por la formación de callo (Fig. 10A y 10D); mientras que en el interior aún se pudieron observar huecos de aire (Fig. 10A). En esta fecha fue más notoria la soldadura del injerto y la curvatura de los haces vasculares de ambos materiales para lograr su encuentro (Fig. 10A y 10D).

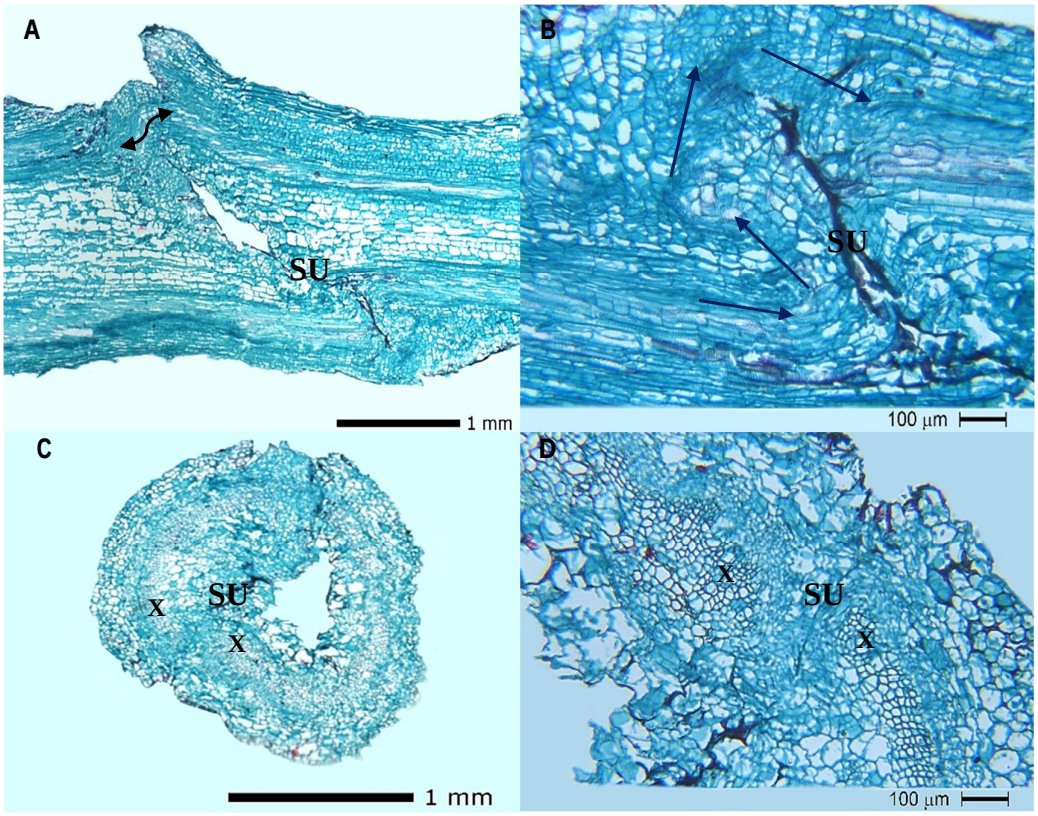

Figura 10. Quinto muestreo, veintiún días después de realizar el injerto. Corte longitudinal (A y B) y transversal (C y D) del sitio de unión del injerto de chile manzano sobre CM-334. X: xilema, SU: sitio de unión del injerto.

3.1.4 Morfología del tallo

Los diámetros de tallo medidos a los 3 y 9 meses después del establecimiento del material vegetal en invernadero mostraron que existió una diferencia estadísticamente

significativa entre el diámetro del sitio de unión de plantas injertadas y el tallo de plantas sin injertar; en ambas fechas las plantas injertadas tuvieron en comparación con las plantas sin injertar un diámetro mayor de alrededor de 2 y 8 mm en promedio para la primera y segunda fecha, respectivamente (Cuadro 4).

Cuadro 4. Efecto del portainjerto serrano "Criollo de Morelos 334" en el diámetro de tallo de plantas de chile manzano injertadas.

FV	**Diámetro de tallo (mm)**	
	Fecha 1 (90 ddt)	**Fecha 2 (270 ddt)**
T1: planta injertada	19.6000**a**[t]	26.1250**a**
T2: planta sin injertar	17.7250**b**	18.6375**b**
CV	6.358190	5.918621
CME	1.4080128	1.754728
MEDIA	18.66250	22.38125
DMSH	0.5282	0.5897

Ddt: Días después del trasplante, CV: coeficiente de variación; CME: cuadrado medio del error; DMSH: diferencia mínima significativa honesta. Comparación de medias con la prueba de Tukey a un nivel de significancia de α=0.05. [t]Medias con la misma letra en cada columna son estadísticamente iguales.

El diámetro promedio del tallo de chile manzano (injerto) fue menor con respecto al diámetro promedio del sitio de unión del injerto y el portainjerto, el cual presentó un diámetro mayor al del sitio de unión, a los 90 ddt las plantas injertadas tuvieron una diferencia de diámetro de tallo entre injerto, punto de unión y portainjerto de 3 a 6 mm; mientras que a los 270 ddt esta fue de 8 a 9 milímetros aproximadamente (Cuadro 5), en la segunda medición el sitio de unión del injerto y el portainjerto tuvieron un diámetro promedio similar en contraste con el diámetro de tallo del injerto (chile manzano) que fue notablemente menor (Figura 11).

Cuadro 5. Diámetro promedio de tallo en injerto, sitio de unión y portainjerto de plantas de chile manzano injertadas sobre CM-334.

Ddt	Diámetro promedio de tallo (mm)		
	Injerto (chile manzano)	**Sitio de unión del injerto**	**Portainjerto (CM-334)**
90	16.45	19.6000	22.15
270	18.3875	26.1250	27.45

Figura 11. Interacción en la interfase del injerto de plantas de chile manzano sobre CM-334 a los 90 (A, B) y 270 (C, D) días después del trasplante.

3.2 Injerto *in vitro*

3.2.1 Porcentaje de germinación

El porcentaje de germinación de chile manzano variedad Grajales St. y del serrano "Criollo de Morelos 334" fue de 100 % y 93 %, respectivamente, para el método de siembra de semilla semicubierta (ss) por el medio de cultivo. Por otra parte, para el método de siembra de semilla cubierta (sc) por el medio de cultivo el porcentaje de germinación fue del 27 % para chile manzano y del 47 % para el CM-334 (Figura 12). El chile manzano germina siete días después de su siembra, mientras que el CM-334 germina a los 5 días después de la siembra. El método de siembra de semilla semicubierta (ss) por el medio de cultivo fue utilizado para la obtención de plántula con fines de injertación en los posteriores experimentos.

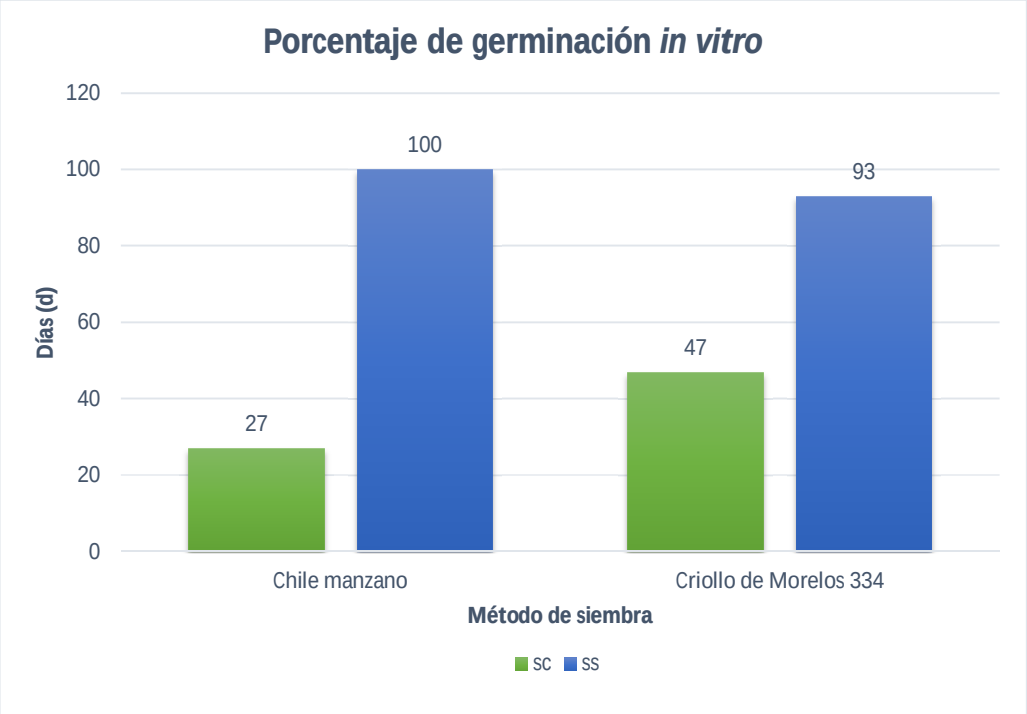

Figura 12. Porcentajes de germinación de semilla cubierta (sc) y semilla semicubierta (ss) por el medio de cultivo, chile manzano variedad Grajales St. y serrano "Criollo de Morelos 334".

3.2.2 Evaluación de reguladores de crecimiento en plantas cultivadas *in vitro*

De acuerdo con el análisis de varianza y comparación de medias realizado para conocer el efecto de cuatro concentraciones de benciladenina y ácido giberélico en la altura de plántulas de CM-334 y chile manzano cultivadas *in vitro* con fines de injertación, existen diferencias significativas entre tratamientos, la variable altura de planta en el testigo (T1) en ambos materiales (CM-334 y chile manzano) tiene una media de valor 4.8333 y 4.033 cm, respectivamente, con lo que se ubican en el grupo a en sus experimentos, la ausencia de BA y AG_3 en el medio de cultivo tiene la mejor respuesta en la variable altura de planta (Cuadro 6).

Cuadro 6. Altura de planta del portainjerto CM-334 y chile manzano variedad Grajales St. en respuesta a cuatro combinaciones de benciladenina (BA) y ácido giberélico (AG_3).

FV	BA ($mg \cdot L^{-1}$)	AG_3 ($mg \cdot L^{-1}$)	CM-344	Chile manzano
			Altura de planta (cm)	
Testigo (T1)	0.0	0.0	4.8333**a**[t]	4.0333**a**
T2	0.1	3.0	2.8000**b**	1.5667**c**
T3	0.3	1.0	1.7333**c**	1.8000**c**
T4	1.0	0.3	2.6000**b**	3.1333**b**
T5	3.0	0.1	2.7333**b**	2.9000**b**
CV	-	-	19.15491	18.01603
CME	-	-	0.3171429	0.23428571
MEDIA	-	-	2.940000	2.686667
DMSH	-	-	0.5758	0.4949

CV: coeficiente de variación; CME: cuadrado medio del error; DMSH: diferencia mínima significativa honesta. Comparación de medias con la prueba de Tukey a un nivel de significancia de $\alpha=0.05$. [t]Medias con la misma letra en cada columna son estadísticamente iguales.

3.2.3 Porcentaje de prendimiento de plantas injertadas *in vitro*

El día 20 después de haber realizado el injerto *in vitro* de chile manzano sobre CM-334 se determinó que el porcentaje de plantas con prendimiento, sin tomar en cuenta las plantas de tubos contaminados, fue del 55.3 %, el 44.7 % restante fueron plantas que se mostraron marchitas a partir del día 4 después del procedimiento de injertación, dos terceras partes de las plantas marchitas se registraron entre los 4 y 7 días después de injertar.

El porcentaje de tubos con injertos que presentaron contaminación por bacteria, hongos o ambos fue de 26.56 %.

Del total de los 64 injertos realizados 26 mostraron prendimiento (40.6 %), 21 presentaron marchitez y muerte de la púa (32.8 %) y 17 fueron eliminados por presentar contaminación del medio de cultivo (26.5 %).

La obtención de planta injertada en condiciones *in vitro*, de chile manzano variedad Grajales St. sobre el chile serrano "Criollo de Morelos 334", desde la siembra de semilla hasta el proceso de aclimatación de los injertos en condiciones de invernadero para su trasplante tuvo una duración de 64 días.

4. DISCUSIÓN

Las semillas del chile serrano "Criollo de Morelos 334" presentaron un porcentaje de germinación por arriba del 90 % en condiciones de invernadero e *in vitro,* el material utilizado fue una línea, por lo que presentó homogeneidad genotípica y fenotípica. El chile manzano tuvo germinación del 68 % en condiciones de invernadero y del 100 % en condiciones *in vitro*, el menor porcentaje de germinación de semillas de chile manzano en condiciones de invernadero se debió a que no se utilizó semilla obtenida directamente de frutos, de acuerdo con Pérez y Castro (2008) esto pudo haber ocasionado endurecimiento de la testa y con ello problemas de germinación y emergencia.

En los tratamientos *in vitro,* donde se avaluó el efecto de distintas concentraciones de benciladenina y ácido giberélico, el mejor efecto estadísticamente significativo, sobre la variable altura de planta lo tuvo el testigo (sin reguladores de crecimiento), con el que se obtuvieron plantas chile manzano y CM-334 con alturas de 4.03 cm y 4.83 cm, respectivamente, a los 25 días después de la siembra, en esta fecha dejó de observarse aumento en la altura de planta tratada con concentraciones de BA y AG_3, es recomendable evaluar nuevos tratamientos de combinaciones de reguladores de crecimiento y de manera individual, en la búsqueda de un medio que brinde las condiciones necesarias para el desarrollo y crecimiento en menor tiempo de plántula de chile manzano y CM-334 con fines de injertación *in vitro*.

El porcentaje de prendimiento de la unión de dos materiales, es señalado por Hartmann *et al.* (2011) como uno de los indicadores de compatibilidad entre ambos materiales. Los injertos de chile manzano sobre CM-334 tuvieron un porcentaje de prendimiento

del 55 % en injertos realizados *in vitro* y 91 % en injertos realizados en cámara de prendimiento. Los injertos *in vitro* presentaron un grado de dificultad de realización mayor en comparación con el injerto realizado en cámara de prendimiento, debido a que el material vegetal utilizado en la metodología *in vitro* fue de menor tamaño y los cortes de las zonas de unión de injertos fueron de menor precisión. Hartmann *et al*. (2011) señalan a las malas técnicas de injertación como una de las principales causas de supuesta incompatibilidad al aparecer, de forma aislada, porcentajes de inexactitudes en el injerto, por lo tanto el bajo porcentaje de prendimiento (54 %) de injertos *in vitro* no fue considerado como un signo de incompatibilidad de los materiales en estudio, al compáralos con el alto porcentaje de prendimiento de injertos realizados en cámara de curado.

El injerto de chile manzano (*Capsicum pubesces* R y P.) sobre el portainjerto serrano "Criollo de Morelos 334" pasó por los eventos principales señalados para que un injerto sea considerado compatible de acuerdo con lo señalado por Moore (1984), hubo cohesión del injerto y portainjerto, se observó la proliferación de células de callo en la interfase del injerto en el día 13 después de realizar el proceso de injertación y en la misma fecha fue notable la rediferenciación vascular que daría origen a los haces vasculares y permitiría el flujo de agua entre el portainjerto y el injerto. En el caso de plantas leñosas Mosse (1962) señala que la fase de formación de callo inicia 24 horas después del proceso de injertación. Hartmann *et al*. (2011) señalan que en el día cinco es posible observar la formación de puente de callo y que durante las 2 a 3 semanas siguientes las bolsas de aire del sitio de unión del injerto se llenan y desaparecen a causa de las nuevas células; esto no ocurrió para el caso del injerto de chile manzano sobre CM-334, ya que se esperaba que al ser tejido suculento tuviera una rápida

formación de callo; sin embargo, las células de callo fueron visibles hasta el día 13 después de realizar el injerto y en el último muestreo, 21 días después de injertar, aun se tuvo la presencia de espacios de aire. La presencia de éstos ha sido reportada en plántulas de jitomate injertadas, donde las células parenquimatosas de la médula central se mueren formando una cavidad cubierta por una capa necrótica visible aún a los 15 días después de realizar el injerto; sin embargo, el sistema vascular permanece inalterado y permite que las plantas sobrevivan (Fernández-García *et al.*, 2004). Por otra parte, Esau (1985) señala que durante el proceso de injertación, un corte exacto realizado en ambas porciones del injerto acelera la formación de la conexión cambial; en cambio cortes mal realizados, con herramienta inexacta o con mala técnica no impiden necesariamente la unión, pero normalmente la retardan. En el día 21 después de realizado el injerto aún fueron visibles ciertas zonas con presencia de cicatriz por el corte del injerto; de igual manera en esta fecha fue muy notorio lo mencionado por Martínez (2013) quien indicó que cuando los sistemas vasculares de ambos tallos no están alineados como consecuencia de diámetros desiguales, parece existir un sistema de reconocimiento celular que hace que los haces vasculares no se unan con las células de la médula o de la corteza, sino que se curvan a conveniencia para buscar su contraparte en el otro tallo. Lo anterior probablemente influye en el tiempo de prendimiento del injerto.

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas del efecto del injerto en el diámetro del sitio de unión de los materiales en cuestión, mismo que fue en promedio 8 mm mayor en el sitio de unión de plantas injertadas (26.1 mm) en comparación con plantas sin injertar (18.6 mm), esto indica que existe un efecto negativo en el portainjerto al incrementarse su diámetro de tallo en dimensiones anormales. Forner

(1984) señala que el injerto y el portainjerto adquieren frecuentemente grosores distintos, y que tal hecho no constituye una verdadera incompatibilidad propiamente dicha, carece de importancia en la mayoría de casos, incluso existiendo una gran diferencia de grosor entre el injerto y el portainjerto. No obstante, ciertos injertos sufren con el tiempo malformaciones en la unión que reducen su vida económica.

El injerto entre plantas de especies diferentes, pero del mismo género, no tiene éxito en todos los casos (Hartmann y Kester, 1988), el portainjerto CM-334 ha sido utilizado en experimentos con chiles del tipo jalapeño, chilaca, cayene (Osuna *et al*., 2012), ancho (García-Rodríguez *et al.*, 2010) y pimiento morrón (Morra y Bilotto, 2006 y Martínez, 2013), todos pertenecientes al género y especie *Capsicum annuum*, en todos los casos se encontró que la formación de callo entre la unión de los injertos fue adecuada, lo cual permitió la conexión firme del cambium de los injertos con el portainjerto CM-334. El chile manzano, perteneciente a la especie y género *Capsicum pubescens* injertado sobre CM-334 tienen la capacidad de concluir con éxito las fases de cohesión, proliferación de células de callo y rediferenciación vascular.

La obtención de planta de chile manzano injertada sobre CM-334, desde la siembra de los materiales a injertar hasta el trasplante en el sitio donde se desarrollaran, tarda un promedio de 89 días en condiciones de invernadero y 64 días en condiciones *in vitro*. Con la técnica de *in vitro* es posible controlar los factores ambientales externos (fotoperiodo, temperatura, humedad relativa) así como la asepsia, el medio de cultivo, los nutrientes disponibles, reguladores de crecimiento, etc.; sin embargo, la manipulación del material vegetal es de mayor dificultad por su tamaño y fragilidad; por otra parte se debe tener mucho cuidado al manipular el material vegetal y de

laboratorio, y el medio de cultivo, ya que se tuvo el 26.5 % de tubos con alguna contaminación por bacterias y/u hongos, 32.8 % de muerte de púa en plantas injertadas y sólo el 40 % de injertos prendidos; el principal beneficio de realizar injertos *in vitro* es la disminución del tiempo de obtención de planta injertada. Por otra parte, el injerto en cámara de prendimiento es viable siempre y cuando las instalaciones para injertar cuenten con las condiciones necesarias de temperatura, humedad y luminosidad, el procedimiento de injerto en cámara de prendimiento es de menor dificultad en comparación con el procedimiento *in vitro,* el mayor tamaño de las plántulas facilita su manejo y sus ventajas son: porcentaje de prendimiento por arriba del 90 %, plantas menos sensibles durante el proceso de aclimatación, con mayor vigor para el trasplante y procedimiento de menor complejidad.

5. CONCLUSIONES

El chile manzano (*Capsicum pubescens* R. y P.) es compatible con el portainjerto serrano "Criollo de Morelos 334" (*Capsicum annuum*). La etapa de cohesión ocurre en los primeros días, la formación de callo y la rediferenciación celular fue visible a los 13 días después de injertar.

La técnica de injertación de chile manzano sobre CM-334 más apropiada para la elaboración del injerto en grandes cantidades es el procedimiento de injerto tradicional en cámara de curado, con un porcentaje de prendimiento por arriba del 90 % y la obtención de planta de mayor tamaño y vigor para el trasplante.

La obtención de plántula de chile manzano injertada sobre CM-334 por los procedimientos *in vitro* y cámara de curado, tienen una duración de 64 y 89 días, respectivamente.

6. LITERATURA CITADA

Blancard, D. 2000. Enfermedades de las Cucurbitáceas. Observar, Identificar, Luchar. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. Reimpresión. 301 p.

Bosland, P. W. and Lindsey, D. L. 1991. A seedling screen for *Phytophthora* root rot of pepper, *Capsicum annuum.* Plant Disease. 75:1048-1050.

Boutherin, D. y Bron, G. 1994. Multiplicación de plantas hortícolas. Zaragoza, Acribia Editorial S.A. 225 p.

Climet, P. S. 1985. Manual del Injertador. Editorial Sites, S. A. España. 239 p.

Esau, K. 1985. Anatomía vegetal. Barcelona. Ediciones Omega. 779 p.

Fernández-García, N.; Carvajal, M.; Olmos, E. 2004. Graft union formation in tomato plants: peroxidase and catalase involvement. Annals of Botany 93:53-60.

Flores-Vindas, E. 1999. La planta, estructura y función. Vol 2. Libro Universitario Regional (LUR). Costa Rica. 884 p.

Forner, V. J. B. 1984. Interacciones entre el injerto y el patrón en los agrios. Hojas divulgadores. Publicaciones de Extensión Agraria. 20 p.

García-Rodríguez, M. R.; Chiquito, A. E.; Loeza, L. P. D.; Godoy, H. H.; Villordo, P. E.; Pons, H. J. L.; González, C. M. M.; Anaya, L. J. L. 2010. Producción de chile ancho injertado sobre criollo de Morelos 334 para el control de *Phytophthora capsici*. Agrociencia 44:701-709.

Garner, J. R. 1983. Manual del injertador. Madrid, Mundi-Prensa, 338 p.

Godínez, V. D.; Rocha, S. M.; Sepúlveda, G. E.B.; Lara, R. J.; Rojas, M. R.; Zavaleta, M. E. 2008. Phenylalanine ammonia Iyase activity in chili CM-334 infected by *Phytophthora capsici* and *Nacobbus aberrans*. European Journal of Plant Pathology 120:299-303.

González, J. 1999. Injerto en hortalizas. In: Vilarnau, A. y González, J. (eds). Planteles: semilleros y viveros. Barcelona, Ediciones Horticultura. pp. 121-128.

Guerrero-Moreno, A.; Laborde, J. 1980. Current status of pepper breeding for resistance to *Phytophthora capsici* in México. pp. 52-56. *In*: Synopses of the 4th Meeting of the Capsicum Working Group of Eucarpia I. V. T. 14-16 October 1980, Wageningen. The Netherlands. pp. 52-56

Hartmann, H. and Kester, D. E. 1988. Propagación de Plantas. Traducida por Marino A. A, Ph. D. Segunda edición. Editorial Continental. 760 p.

Hartmann, H.; Kester, D. and Davis, F. 1990. Plant Propagation, Principles and Practices. New Jersey, Prentice-Hall. 647 p.

Johkan, M.; Oda, M.; Mori, G. 2008. Ascorbic acid promotes graft-take in sweet pepper plants (*Capsicum annuum* L.). Scientia Horticulturae 116: 343-347.

Lee, J. M.; Oda, M. 2003. Grafting of herbaceous vegetable and ornamental crops. *In*: Horticultural Reviews. John Wiley & Sons. Vol. 28. USA, New York. 478 p.

Lee, J. 1994. Cultivation of grafted Vegetables I. Current Status, Grafting Methods, and Benefits. HortScience 29(4):235-239.

López, M. N.; Colinas León, M.T.; Peña Valdivia, C.B.; Salinas Moreno, Y.; Fuentes Montiel, P.; Biesaga, M.; Zavaleta Mejía, E. 2010. Alterations in peroxidase activity and phenylpropanoid metabolism induced by *Nacobbus aberrans* Thorne and Allen, 1944 in chilli (*Capsicum annuum* L.) CM334 resistant to *Phytophthora capsici* Leo. Plant Soil (DOI 10.1007/s11104-010-0553-5).

Martínez, V. A. 2013. CM-334 como portainjerto de pimiento morrón: compatibilidad, resistencia a *Phytophthora capsici* L y desempeño agronómico. Tesis de Maestría. Instituto de Horticultura, Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. 80 p.

Moore, R. 1984. A model for graft compatibility-incompatibility in higher plants. American Journal of Botany 71(5): 752-758

Morra, L.; Bilotto, M. 2006. Evaluation of new rootstocks for resistance to soil-borne pathogens and productive behavior of pepper (*Capsicum annuum* L.). Journal of Horticultural Science & Biotechnology 81(3): 518-524.

Mosse. 1962. Graft-incompatibility in fruit trees. Technical Communication N. 28. Commonwealt Agricultural Bureaux Farnham Royal. Bucks, England. 36 p.

Murashige, T. y Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Plant Physiology Journal. 15: 473-497.

Osuna, A. P.; Aguilar, S. J.; Fernández, P. S.; Godoy, H. H.; Corral, D. B.; Flores, M. J. P.; Borrego, P. A.; Olivas, E. 2012. Injertos en chiles tipo cayene, jalapeño y chilaca en el noroeste de Chihuahua, México. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas (3):4.

Ousmane, S.; Bosland, P.W. 2005. Inheritance of *Phytophthora* stem blight resistance as comparated to *Phytophthora* root rot and *Phytophthora* foliar blight resistance in *Capsicum annuum* L. Journal of the American Society for Horticultural Science 130(1):72-78.

Palada, M. C.; Wu, D. L. 2008. Grafting sweet peppers for production in the hotwet season. AVRDC Publication No: 09-722-e. 8 p.

Pegard, A.; Brizzard, G.; Fazari, A.; Soucaze, O.; Abad, P.; Djian, C. C. 2005. Histological characterization of resistance to different root-knot nematode species related to phenolic accumulation in *Capsicum annuum*. Phytopathology 95:158-165.

Pérez, G. M.; Castro, B. R. 2008. El Chile Manzano. Universidad Autónoma Chapingo. 128 p.

Redondo-Juárez, E. 1986. Mecanismos de infección y patología de las plantas de chile susceptibles y resistentes al hongo *Phytophthora capsici* Leo. Tesis de doctorado en fitopatología. Colegio de Postgraduados, Montecillos, México. 182 p.

Sass, J. E. 1968. Botanical Microtechnique. 3rd Edition. The Iowa State University Press. Ames, Iowa, USA. 227 p.

Santos, H. S. e Goto. R. 2004. Enxertia em plantas de pimentao no controle da murcha de fitoftora em ambiente protegido. Horticultura Brasileira 22(1): 45-49.

Stevenson, W. R. 2001. Podredumbre del fruto y podredumbre de las raíces. pp. 11. *En*: Compendio de Plagas y Enfermedades del Tomate. Jones, J.B.; Jones, J.P.; Stall,

R.E.; Zitter, T.A. (Eds). Ediciones Mundi-Prensa. APS Press. St. Paul Minnesota, United States of America. Edición en Español. 74 p.

Sy, O.; Bosland, P. W.; Steiner, R. 2005. Inheritance of *Phytophthora* stem blight resistance as compared to *Phytophthora* root rot and *Phytophthora* foliar blight resistance in *Capsicum annuum* L. Journal of the American Society for Horticultural Science 130:75-78.

Tahboud, M. B.; Sanogo, S.; Bosland, P. W.; Murray, L. 2008. Heat level in chile pepper in relation to root and fruit infection by *Phytophthora capsici*. HortScience 43(6): 1846-1851.

Trujillo-Viramontes, F.; Zavaleta-Mejía, E.; Rojas-Martínez, R. I.; Lara, J. 2005. Tiempo de inoculación y nivel de inoculo, factores determinantes para el rompimiento de resistencia a *Phytophthora capsici* inducido por *Nacobbus aberrans* en chile (*Capsicum annuum*). Nematropica 35: 37:44.

Vargas, E. M. T.; Zavaleta-Mejía, E.; Hernández, A. A. M. 1996. Rompimiento de resistencia a *Phytophthora capsici* Leo, en chile (*Capsicum annuum* L.) serrano CM-334 por *Nacobbus aberrans* Thorne y Allen. Nematropica 26: 159-166.

Walker, S. J.; Bosland, P. W. 1999. Inheritance of *Phytophthora* root rot and foliar blight resistance in pepper. Journal of the American Society for Horticultural Science 124(1):14-18.

CAPITULO II. DESEMPEÑO AGRONÓMICO DE CHILE MANZANO INJERTADO SOBRE CHILE SERRANO CRIOLLO DE MORELOS 334

CHAPTER II. AGRONOMIC BEHAVIOR OF MANZANO HOT PEPPER GRAFTED ONTO SERRANO "LANDRACE FROM MORELOS 334" PEPPER

Estela **Martínez Soriano**[1] **y** Mario **Pérez Grajales**[2]

RESUMEN

Se evaluó el efecto del chile serrano "Criollo de Morelos 334 (CM-334)" (*Capsicum annuum*) como portainjerto de chile manzano (*Capsicum pubescens* R. y P.) en variables de rendimiento, morfología y calidad de fruto. También se evaluó el efecto de tres niveles de poda en plantas injertadas y se obtuvo el porcentaje de inoculación de micorrizas en el CM-334, en busca de alternativas para compensar el menor sistema radical del portainjerto. El uso del CM-334 como portainjerto de chile manzano tuvo los mejores efectos estadísticamente significativos ($P \leq 0.05$) en las variables de número de frutos (26.857), peso total de frutos por planta (1.873 kg) y rendimiento (11.7089 $t \cdot ha^{-1}$), este último fue 32 % mayor que en plantas sin injertar, además el injerto permitió tres semanas de precocidad a producción. En la evaluación del efecto de niveles de poda en plantas de chile manzano injertadas, el manejo a dos tallos permitió aumentar el rendimiento 8.89 % con respecto a las de cuatro tallos y 42.58 % más que las plantas sin poda. Los frutos de plantas injertadas tuvieron las características de frutos comercializables en las variables: peso de fruto (70.37 g), volumen (95.85 ml), longitud (5.35 cm) y diámetro (5.5 cm). El uso de micorrizas promovió el 60.17 % de colonización en raíces del CM-334 en un sistema de producción con tezontle y composta (2:1) como sustrato y uso de solución nutritiva de Steiner al 50 %.

PALABRAS CLAVE: *Capsicum pubescens*, CM-334, injerto, poda, micorrizas.

ABSTRACT

The effect of serrano "Landrace from Morelos 334 (CM-334)" (*Capsicum annuum*) as rootstock of manzano hot pepper (*Capsicum pubescens* R. y P.) was evaluated in variables of yield, fruit`s morfology and quality. Also was evaluated the effect of three pruning levels in grafted plants and it showed the inoculation percentage de mychorrhizae in CM-334, looking for alternatives to balance the minor root system from the rootstock. Using the CM-334 as rootstock of manzano hot pepper had the best effects stadistically significative ($P \leq 0.05$) in the variables of fruit number (26.857), total fruit weight per plant (1.873 kg) and yield (11.7089 $t \cdot ha^{-1}$), last one was 32 % bigger than plants without graft, also the graft allowed three weeks of earliness to production. In the evaluation of pruning levels in plants of manzano hot pepper onto CM-334, handling two stems allowed to increase the yield 8.89 % higher than the plants handled with four stems and 42.58 % higher than the plants without pruning. The fruits of grafted plants had the characteristics of marketable fruits in the variables: weight (70.37 g), volume (95.85 ml), length (5.35 cm) and diameter (5.5 cm). The use of mycorrhizae presented 60.17 % of colonization in roots of the CM-334 in a production system with tezontle and compost (2:1) as substrate and using Steiner nutrient solution 50 %.

KEY WORDS: *Capsicum pubescens*, CM-334, graft, pruning, mycorrhizae.

---

[1] Autora de la tesis/ Graduated student

[2] Director de tesis/ Thesis advisor

1. INTRODUCCIÓN

El chile manzano (*Capsicum pubescens* R. y P.) generalmente es cultivado en huertos familiares, en regiones con altitudes entre 1700 a 2400 m como las que se encuentran en algunos lugares templados y fríos de los estados de Michoacán, Puebla, México y Veracruz. La planta alcanza alturas de hasta tres metros y requiere de una estación de crecimiento libre de heladas para poder vivir más de 10 años (Pérez y Castro, 1998), sí se atiende adecuadamente las enfermedades y plagas que la afectan pueden llegar a vivir 15 años o más (SAGARPA, 2014). También se le cultiva de manera intensiva en condiciones de invernadero en un sistema de producción intensivo, en altas densidades de población (10,000 plantas/ha^{-1}) con variedades cuyos atributos son superiores a los de las variedades criollas (Pérez *et al*., 2004).

Phytophthora capsici es el factor limitante más importante para la producción de chile en el mundo. En función de las condiciones ambientales, la virulencia de los aislados y la cantidad de inóculo de *P. capsici* en el suelo, este patógeno puede causar de 25 a 40 % de las pérdidas del cultivo. Una de las estrategias más comunes para controlar este patógeno es utilizar fumigantes y fungicidas; sin embargo, su uso indiscriminado ha ocasionado el desarrollo de aislamientos resistentes, problemas de contaminación ambiental y de salud pública. Esto ha causado la prohibición de algunos de los productos más usados para controlar *P. capsici,* como el bromuro de metilo (García-Rodríguez *et al*., 2010). En la producción de hortalizas, la injertación constituye una importante estrategia del manejo integrado de cultivos, específicamente como una medida para reducir el efecto de los patógenos que afectan las raíces de solanáceas y cucurbitáceas. Japón y Corea, fueron los primeros países en usar esta técnica a finales de los años 1920's cuando injertaron sandia (*Citrullus lanatus*) en calabaza tipo botella

(*Lagenaria siceraria*) (Lee, 1994) y se ha ido adaptando a la producción orgánica así como a otros sistemas con un enfoque biorracional para minimizar la absorción de residuos de agroquímicos (Lee *et al.*, 2010).

El método de control de enfermedades mediante el uso de la técnica de injerto no está bien dilucidado. Se presume que el método principal es la evasión de la enfermedad cuando el portainjerto es resistente al patógeno (King *et al*., 2008), lo que evita que la parte superior (injerto) entre en contacto con el suelo y el patógeno. Existen posibles desventajas entre las que destacan un prendimiento más complicado y sin aporte de vigorosidad adicional a la planta por parte del portainjerto (Érard y Odet, 2009). La razón más obvia es la incompatibilidad portainjerto-injerto, lo cual induce una disminución del crecimiento o sobre crecimiento del injerto y como consecuencia un menor flujo de nutrimentos y agua a través de la unión del injerto, causando marchitamiento (Davis *et al*., 2008). La combinación de dos plantas diferentes en una sola planta por medio de injerto, en la cual una parte produce el brote y la otra las raíces, puede producir patrones de crecimiento que difieren de aquellos que hubieran tenido las partes componentes cultivadas por separado. Algunos de estos efectos son de gran valor hortícola, mientras que otros son perjudiciales y se deben evitar. Las características alteradas pueden resultar (a) de reacciones de incompatibilidad, o (b) del hecho que una de las partes del injerto tenga uno o más caracteres específicos que no se encuentran en la otra como resistencia a ciertas enfermedades, nemátodos o insectos, o bien tolerancia de ciertas condiciones adversas del clima y del suelo, o (c) interacciones específicas entre el portainjerto y el injerto que alteran el tamaño, desarrollo, productividad, calidad del fruto u otros atributos hortícolas (Hartmann y Kester, 1988).

Se ha reportado que el pH, sabor, azúcares, color, contenido de carotenoides y textura pueden ser afectados por el injerto y el tipo de portainjerto utilizado. Los reportes varían desde efectos ventajosos o desfavorables, pero normalmente es de común acuerdo que la combinación portainjerto-injerto debe ser cuidadosamente escogida para una calidad de fruto óptima (Davis *et al.*, 2008).

García-Rodríguez *et al.* (2010), mencionan que el uso de CM-334 como portainjerto para injertos de chile ancho tiene potencial para la producción de chile en zonas con alta incidencia de *P. capsici,* con un rendimiento 20 % menor en plantas injertadas en comparación con plantas no injertadas y sin inocular; mientras que las plantas sin injertar e inoculadas con *P. capsici* murieron. Por otra parte**,** Martínez (2013) señala que el uso del CM-334 como portainjerto de pimiento morrón es una alternativa viable solo en condiciones de alta presión del patógeno, en sistemas de producción donde las posibilidades de rápida diseminación de la enfermedad son altas y/o el uso de fungicidas esté restringido, ya que al estudiar el efecto individual del portainjerto, se tuvo una disminución del rendimiento de 40 %, además menciona que mediante la inspección visual en plantas injertadas, se observó un sistema radical menos abundante que en las plantas de pimiento morrón sin injertar. La reducción del vigor en el injerto es uno de los mayores problemas al injertar pimiento morrón (Santos y Goto, 2004). García-Rodríguez *et al.* (2010) también reportaron una reducción en el vigor de plantas de chile ancho injertadas sobre CM-334.

Según Fernández y Liddell (1998), la resistencia de CM334 es independiente de la variedad injertada y este cultivar se podría usar como portainjerto. Sin embargo, para considerar el uso de un portainjerto, es imprescindible determinar, además de la

resistencia y la compatibilidad, el rendimiento de frutos comerciales, una característica aún no evaluada en la mayoría de las investigaciones.

En los estudios de evaluación agronómica de planta injertada que se han realizado hasta la fecha, en general se reporta una disminución de vigor y rendimiento, por lo que en este trabajo se evaluó el efecto del injerto en variables de rendimiento, morfología y calidad de fruto de plantas de chile manzano injertadas sobre CM-334. De acuerdo con la tendencia de la disminución del rendimiento de los cultivos donde se ha utilizado el CM-334 como portainjerto, se planteó la evaluación del efecto de niveles de poda en busca de evitar un crecimiento excesivo de la planta e incrementar la calidad de los frutos en tamaño y grosor de pericarpio como señalan Pérez y Castro (1998). De igual manera, se determinó el porcentaje de colonización de micorrizas como una posible alternativa para compensar la menor área radical del portainjerto y por lo tanto la disminución del rendimiento.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Localización y condiciones del sitio experimental

El experimento se realizó en el invernadero de chile manzano, en el Campo Experimental de la Universidad Autónoma Chapingo, en Chapingo, Estado de México, con coordenadas 19° 29’ LN y 98° 53’ LO, a 2240 msnm. La temperatura y humedad relativa promedio dentro del invernadero, durante las horas con mayor intensidad luminosa, fueron de 26 °C y 40 %, respectivamente; las condiciones ambientales se monitorearon con un data logger HOBO® modelo H8.

2.2 Material vegetal

Se utilizaron plantas de chile manzano variedad Grajales St. sin injertar y plantas de chile manzano variedad Grajales St. injertadas sobre el chile serrano “Criollo de Morelos 334 (CM-334)” por el método de injerto de empalme con grapa de plástico en cámara de curado.

2.3 Establecimiento y manejo del cultivo en invernadero

El trasplante del material vegetal se realizó el 15 de agosto de 2013, a los 6 meses de haber realizado la siembra del material injertado en cámara de curado y a los 4 meses después del proceso de injertación.

Para el establecimiento de la planta se utilizaron bolsas de polietileno negro de 50 x 50 cm rellenas con tezontle rojo nuevo hasta la mitad y en la parte superior una mezcla de tezontle rojo nuevo y composta en proporción 2:1. Las plantas fueron colocadas en hileras con una separación de 2 metros entre hileras y 0.8 metros de distancia entre plantas, con una densidad de siembra de 0.625 plantas/m^2.

Las plantas fueron manejadas a cuatro tallos, las ramas laterales fueron podadas en el sexto nudo y el ápice terminal fue eliminado cuando la planta alcanzó alrededor de 2.5 m de altura. El dosel de la planta se mantuvo en forma de "v" mediante el uso de alambre galvanizado y rafia situado paralelamente a las hileras de plantas.

El sistema de riego fue localizado con el uso de cintilla y distribuidores de cuatro salidas, con goteros con estaca y microtubin, la separación entre los distribuidores fue de 0.8 m, por lo que se colocaron 2 estacas/maceta, a una distancia de 3 cm de la corona durante la semana después del trasplante y posteriormente a una distancia de 10 cm de la base del tallo. Para los riegos se utilizó la solución nutritiva de Steiner al 50 % y semanalmente se hizo una aplicación de ácidos húmicos Humistar® (1 litro en 300 litros de agua) con el riego.

Como prevención ante la posible manifestación de enfermedades de origen fúngico en la raíz, se realizó una aplicación del fungicida biológico PHC® T-22® (*Trichoderma harzianum*) a través del riego, a una dosis de 300 g en 400 litros de agua.

2.4 Plagas y enfermedades

Durante el experimento se tuvo incidencia de mosquita blanca (*Trialeurodes vaporariorum*), pulgón (*Myzus persicae*) y trips (*Frankliniella occidentalis*); para disminuir las poblaciones se colocaron trampas pegajosas elaboradas con platos amarillos para la mosquita blanca y platos azules para el pulgón y trips, el adherente utilizado fue el Stick bug. Para el control de insectos chupadores también se realizó una aplicación del hongo *Beauveria bassiana* a una dosis de 3 $g \cdot L^{-1}$ de agua, finalmente se realizaron tres aplicaciones de Beleaf ® (Flonicamid) a una dosis de 0.8 $g \cdot L^{-1}$ de agua.

Se observaron daños en área foliar y fruto ocasionados por el gusano del fruto (*Heliothis virescens*), para su control se realizó una aplicación de *Bacillus thuringiensis* a una dosis de 3 $g \cdot L^{-1}$ de agua y en la siguiente semana se aplicó PHC® META TRON® (*Metarhizium anisopliae*) a una dosis de 2 $g \cdot L^{-1}$ de agua, este último también controla mosquita blanca.

Se tuvo incidencia de bacterias (*Pseudomonas*) básicamente en las plantas injertadas, para su control se realizaron aplicaciones mensuales de Fungimicin 500® y Agri-mycin® (Estreptomicina + Oxiteraciclina) en dosis de 2.5 $g \cdot L^{-1}$ de agua y 2 $g \cdot L^{-1}$ de agua, respectivamente.

También con el riego se realizaron aplicaciones preventivas de Interguzan 30-30 (Quintoceno + Thiram) en una dosis de 1 $kg \cdot ha^{-1}$ para proteger a la raíz contra *Fusarium y Rhizoctonia solani*.

2.5 Diseño experimental y tratamientos

2.5.1 Experimento 1. Efecto del injerto de chile manzano sobre CM-334

Para conocer el efecto del CM-334 como portainjerto de chile manzano en las variables de rendimiento y calidad de fruto, se compararon plantas manejadas a cuatro tallos injertadas en cámara de prendimiento y sin injertar, se estableció un diseño completamente al azar con siete repeticiones y dos tratamientos. La unidad experimental fue de una planta. Los tratamientos evaluados fueron los siguientes:

T1: plantas de chile manzano variedad Grajales St. injertadas sobre el chile serrano "Criollo de Morelos (CM-334)".

T2: plantas de chile manzano variedad Grajales St., sin injertar.

2.5.2 Experimento 2. Efecto de niveles de poda en injertos de chile manzano sobre CM-334

En este experimento se evaluó el efecto de niveles de poda en plantas de chile manzano injertadas sobre CM-334. El diseño experimental utilizado fue un completamente al azar con ocho repeticiones, la unidad experimental fue de una planta. Se evaluaron dos tratamientos y un testigo que a continuación se describen:

T1: plantas injertadas manejadas a dos tallos

T2: plantas injertadas manejadas a cuatro tallos

T3: plantas injertadas sin poda (crecimiento libre)

2.5.3 Experimento 3. Inoculación micorrízica en plantas de chile manzano

Se realizaron tres aplicaciones de hongos vesículo-arbusculares; éstas fueron realizadas al mes, dos y tres meses después del trasplante, el producto utilizado fue PHC® Hortic Plus®, este inoculante contenía esporas de cuatro hongos vesículo-arbusculares (*G. clarum, G. etunicatum, G. intraradices, E. columbiana*) mínimo 7,268 esporas por kg, y seis bacterias fijadoras de nitrógeno, solubilizadoras de fósforo y promotoras del crecimiento: *Bacillus licheniformis, B. megaterium, B. polymyxa, B. subtilis, B. thuringiensis y Paenibacillus azotofixans* con una cantidad de 1.8×10^6 unidades, entre otros compuestos, con la finalidad de proporcionar medios que facilitaran la absorción de nutrimentos al sistema radical de la planta, principalmente para las plantas injertadas, ya que el sistema radical del CM-334 no es muy desarrollado de acuerdo con lo observado por Martínez (2013) en plantas de pimiento

morrón injertadas sobre CM-334, donde el sistema radical fue menor en plantas injertadas en comparación con las plantas sin injertar.

La aplicación de PHC® Hortic Plus® fue la recomendada para cultivos establecidos en una dosis de 7 g/planta/aplicación, se realizaron dos medias lunas contrapuestas de 5 a 10 cm de profundidad en la zona de raíces absorbentes de la planta donde los siete gramos del producto granulado fueron distribuidos de manera uniforme. La fecha del trasplante de chile manzano fue el 15 de agosto de 2013, las aplicaciones de PHC® Hortic Plus® se realizaron el 16 de septiembre, 17 de octubre y el 16 de noviembre del mismo año

2.5.3.1 Determinación del porcentaje de inoculación radical

Toma de muestras

Se humedeció el sustrato para facilitar el desprendimiento del suelo de las plantas a muestrear, el desprendimiento o toma de muestras de raíces absorbentes fue a dos profundidades 0-10 y 10-20 cm, se tomaron muestras de cuatro plantas a las profundidades mencionadas, las raíces muestreadas fueron colocadas en cajas de Petri, donde se enjuagaron hasta eliminar cualquier suciedad y se eliminaron las raíces más gruesas.

Procesamiento de muestras

Las raíces seleccionadas fueron colocadas por muestra en vasos de precipitados de 50 ml con KOH al 10 % necesario para cubrirlas, posteriormente se calentaron durante 10 segundos a baño maría en el horno de microondas. Las raíces fueron retiradas del KOH al 10 % y enjuagadas durante 20 minutos en H_2O_2; posteriormente se enjuagaron

con agua destilada y se seleccionaron las seis raíces más delgadas por cada profundidad, con un total de 12 raíces seleccionadas por planta. Las muestras fueron colocadas en portaobjetos, se agregaron 2 gotas de lactofenol + azul Tripan y un cubreobjetos, después de cinco minutos se observó cada raíz con el uso de un microscopio compuesto.

2.6 Variables evaluadas

2.6.1 Variables de rendimiento

Frutos totales por planta (FT)

Los frutos totales por planta son el valor promedio de la producción de una planta con 7 repeticiones para el experimento uno (efecto del injerto de chile manzano sobre CM-334) y 8 para el experimento dos (niveles de poda), los cortes fueron semanales y se realizaron 15.

Peso total de frutos por planta (PF)

Es el valor promedio de la producción de frutos comercializables por planta, con siete repeticiones para el experimento uno (efecto del injerto de chile manzano sobre CM-334) y ocho repeticiones para el experimento dos (niveles de poda), los cortes fueron semanales y se realizaron 15.

Peso promedio de fruto (P·F)

Es el peso total de frutos comercializables entre el número total de frutos, se tuvieron siete repeticiones para el experimento uno (efecto del injerto de chile manzano sobre CM-334) y ocho repeticiones para el experimento dos (niveles de poda), se realizaron 15 cortes semanales.

Rendimiento promedio (R)

Se obtuvo tomando en cuenta la densidad de plantación del cultivo de 0.625 plantas/m^2 y el peso total de frutos comercializables por planta, se tuvieron siete repeticiones para el experimento uno (efecto del injerto de chile manzano sobre CM-334) y ocho repeticiones para el experimento dos (niveles de poda), se hicieron 15 cortes, uno por semana.

2.6.2 Variables de calidad de fruto

Longitud de fruto (LF)

Es el valor de la distancia entre la parte basal del fruto y el ápice del fruto, fue medido con un vernier digital. La longitud de fruto es el valor promedio de la longitud de frutos comercializables en una planta con siete repeticiones para el experimento uno (efecto del injerto de chile manzano sobre CM-334) y ocho repeticiones para el experimento dos (niveles de poda), se realizaron 15 cortes, uno por semana.

Diámetro de fruto (DF)

Se midió en la parte media de la longitud del fruto con un vernier digital. El diámetro de fruto es el valor promedio de los diámetros de frutos comercializables de una planta con siete repeticiones para el experimento uno (efecto del injerto de chile manzano sobre CM-334) y ocho repeticiones para el experimento dos (niveles de poda), se realizaron 15 cortes, uno por semana.

Volumen de fruto (VF)

Se midió con un vaso de precipitados de 1 L, el vaso fue aforado a 400 ml donde se introdujo el fruto y de acuerdo con la cantidad de agua desplazada se obtuvo el volumen en ml. El volumen de fruto es el valor promedio de los volúmenes de frutos comercializables de una planta con siete repeticiones para el experimento uno (efecto del injerto de chile manzano sobre CM-334) y ocho repeticiones para el experimento dos (niveles de poda), se realizaron 15 cortes, uno por semana.

Número de lóculos (NL)

Es el valor promedio del número de lóculos de un muestreo realizado al azar, se tomó un fruto en cinco plantas con cinco repeticiones para cada experimento, los muestreos fueron semanales.

Grosor de pericarpio (GP)

Se midió con un vernier digital, el grosor de pericarpio es el promedio de la distancia que existe entre la parte más externa del epicarpio y la más interna del pericarpio de los frutos de un muestreo realizado al azar, se tomó un fruto en cinco plantas con cinco repeticiones para cada experimento, los muestreos fueron semanales.

Número de semillas por fruto (NS)

Es el número de semillas promedio contabilizadas por fruto de un muestreo realizado al azar en cinco plantas con cinco repeticiones, el muestreo se realizó semanalmente.

Peso de semillas por fruto (PS)

Las semillas contenidas en un fruto fueron pesadas en una balanza analítica, la semilla fue extraída el día en que se cosechó el fruto y se colocaron en bolsas de papel estraza y pesadas a los quince días, el peso de semilla es el peso promedio de semillas por fruto de un muestreo realizado al azar en cinco plantas con cinco repeticiones, el muestreo se realizó semanalmente.

2.6.3 Colonización de micorrizas

Se observaron las preparaciones de raíz en microscopio compuesto, para cada planta muestreada se tuvieron 12 segmentos de raíz (6 de profundidad 0-10 cm y 6 de profundidad 10-20 cm), cada segmento de raíz representó el 8.33 % del total (12 segmentos), por lo que de acuerdo con la metodología utilizada en el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) de Texcoco, Estado de México, la presencia de por lo menos una hifa, espora o vesícula en el segmento de raíz representó el 8.33 % de colonización.

2.7 Análisis estadístico

El paquete estadístico SAS fue utilizado para conocer los efectos de niveles de poda en plantas de chile manzano injertadas sobre CM-334 y los efectos del injerto en plantas de chile manzano, en los dos experimentos se evaluaron variables de rendimiento y calidad de fruto. La comparación de medias se realizó con la prueba de Tukey a un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Efecto de dos niveles de poda en planta de chile manzano injertada sobre CM-334 en las variables de rendimiento y calidad de fruto

En el análisis de varianza y prueba de comparación de medias se encontró que realizar poda a dos o cuatro tallos tiene un efecto estadísticamente igual en la variable número de frutos con un promedio de 26.375 y 24.375 frutos por planta; mientras que las plantas sin poda tuvieron un menor número de frutos, encontrándose en la agrupación b con un promedio de 16.875 frutos por planta. En la comparación de medias para las variables de peso total de frutos por planta y rendimiento se tuvieron tres agrupaciones, siendo la poda a dos tallos (agrupación a) el tratamiento que tuvo un mejor efecto con un peso total de frutos por planta promedio de 1.841 kg, en un periodo de 15 semanas de cosecha (una cosecha por semana) y un rendimiento de 11.5 $t \cdot ha^{-1}$, considerando una densidad de plantación de 0.625 plantas/ha. Posteriormente en la agrupación b se tuvo al tratamiento de poda a cuatro tallos con un peso total de frutos por planta de 1.677 kg y un rendimiento de 10.485 $t \cdot ha^{-1}$, el menor efecto fue el del testigo (agrupación c) con un peso total de frutos de 1.057 kg y un rendimiento de 6.607 $t \cdot ha^{-1}$ que representa el 57 % de lo obtenido en el tratamiento con el mejor efecto en ambas variables (poda a dos tallos) y el 63 % de lo obtenido en plantas manejadas a cuatro tallos; esto se debe a que existe una correlación positiva altamente significativa del número de frutos (0.93090**) y el peso total de frutos por planta (1.00000**) con el rendimiento por planta. El efecto de niveles de poda en la variable de peso por fruto no mostró diferencias estadísticamente significativas, esta variable tuvo una media de 67.45 g de peso por fruto. En plantas injertadas y manejadas a dos y cuatro tallos se tiene un número total de frutos por planta y un peso por fruto estadísticamente iguales, lo que no sucede con el testigo, el cual al no ser podado presentó un menor número de

frutos debido a que la poda disminuye la competencia entre los órganos de la planta, regulando el balance entre crecimiento reproductivo y el vegetativo (Almaguer, 1998). Es recomendable manejar las plantas de chile manzano injertadas sobre CM-334 a dos y cuatro tallos; sin embargo, la poda a dos tallos tuvo un mejor efecto en las variables de peso total de frutos por planta y rendimiento, debido a que el número de frutos y peso por fruto fueron ligeramente más elevados aunque no estadísticamente diferentes al manejo de las plantas a cuatro tallos (Cuadro 7).

Cuadro 7. Efecto de dos niveles de poda en el rendimiento de plantas de chile manzano injertadas sobre CM-334.

FV	**FT** **No. de frutos**	**PF** **(g)**	**P·F** **(g)**	**R** **(t·ha^{-1})**
Poda a dos tallos	26.375**a**^{t}	1841.31**a**	70.226**a**	11.5082**a**
Poda a cuatro tallos	24.375**a**	1677.59**b**	68.899**a**	10.485**b**
Testigo (sin poda)	16.875**b**	1057.13**c**	63.234**a**	6.607**c**
CV	8.772877	4.569127	8.662226	4.569127
CME	3.9107143	4857.379	67.45301	0.1897414
MEDIA	22.54167	1525.344	67.45301	9.533398
DMSH	2.4923	87.835	7.3638	0.549

FV: fuente de variación; CV: coeficiente de variación; CME: cuadrado medio del error; DMSH: diferencia mínima significativa honesta; FT: frutos totales por planta; PF: peso total de frutos por planta; P·F: peso promedio de fruto; R: rendimiento promedio. Comparación de medias con la prueba de Tukey a un nivel de significancia de α=0.05. ^{t}Medias con la misma letra en cada columna son estadísticamente iguales.

El efecto de los niveles de poda en las variables de morfología y calidad de frutos fue estadísticamente igual para el caso de la longitud de fruto que tuvo una media de 5.043 cm, volumen de fruto con una media de 99.795 mm y el grosor de pericarpio con una media de 5.708 mm. Para la variable diámetro de fruto el mejor efecto lo tuvo el tratamiento de poda a dos tallos, con un diámetro promedio de 5.539 cm (Cuadro 8).

Cuadro 8. Efecto de dos niveles de poda en la morfología y calidad de fruto de plantas de chile manzano injertadas sobre CM-334.

FV	LF (cm)	DF (cm)	VF (ml)	NL No. de lóculos	GP (mm)	NS No. de semillas	PS (g)
Poda a dos tallos	5.191**a**[t]	5.539**a**	104.74**a**	2.438**b**	5.594**a**	65.313**c**	0.645**b**
Poda a cuatro tallos	4.945**a**	5.439**ab**	99.026**a**	2.688a**b**	5.813**a**	85.875**a**	0.727**a**
Testigo (sin poda)	4.994**a**	5.311**b**	95.611**a**	3.000**a**	5.719**a**	77.625**b**	0.661**ab**
CV	5.103	2.940	10.399	11.917	9.569	5.140	8.310
CME	0.066	0.025	107.699	0.104	0.298	15.368	0.003
MEDIA	5.043	5.430	99.795	2.708	5.708	76.271	0.677
DMSH	0.324	0.201	13.079	0.407	0.688	4.941	0.071

FV: fuente de variación; LF: longitud de fruto; DF: diámetro de fruto; VF: volumen de fruto; NL: número de lóculos; GP: grosor de pericarpio; NS: número de semillas por fruto; PS: peso de semillas por fruto. DMSH: diferencia mínima significativa honesta. Comparación de medias con la prueba de Tukey a un nivel de significancia de α=0.05. [t]Medias con la misma letra en cada columna son estadísticamente iguales.

Los frutos de plantas injertadas superaron en promedio las características del híbrido intervarietal de chile manzano Puebla x Zongolica (Var. Grajales St.), ya que de acuerdo con Pérez y Castro (2008) este hibrido tiene un volumen de 70 ml, grosor de pericarpio de 0.52 cm. En contraste, los frutos obtenidos de las plantas injertadas fueron de 99.7 ml en volumen y 5.7 mm en grosor de pericarpio; cabe señalar que la demanda del hibrido Puebla x Zongolica es favorecida por el tamaño promedio de sus frutos, más que por el número de estos por planta, por lo que las características de los frutos obtenidos a partir de planta injertada cumplen con los requerimientos en cuanto a tamaño para ser comercializados. La variable número de semillas fue mayor, con una media de 76.2, en comparación con el número de semillas promedio del híbrido intervarietal Puebla x Zongolica que es de 70 por fruto, número menor a lo registrado

en este trabajo. Rojas (2008) menciona que en plantas de chile manzano sin podar se incrementa el número de frutos y disminuye el tamaño, contrario a lo obtenido en este trabajo, donde el testigo tuvo un promedio de 16 frutos por planta y las plantas de dos y cuatro ramas principales de 24 a 26 frutos por planta. Los frutos de plantas sin poda tuvieron los valores más bajos en cuanto a número, peso y diámetro de fruto.

En este experimento la poda a dos tallos tuvo la mejor relación fuente demanda para el incremento del peso por fruto, número de frutos y por lo tanto del rendimiento; y existió correlación altamente significativa entre el número de frutos y el rendimiento (0.93090**), el peso total de frutos por planta y el rendimiento (1.00000**), el peso por fruto con el largo de fruto (0.73993**), diámetro de fruto (0.95171**) y volumen de fruto (0.93993**), de la longitud de fruto con el diámetro de fruto (0.73459**) y volumen de fruto (0.85055**), y del diámetro de fruto con el volumen de fruto (0.93068**) (Cuadro 11).

3.2 Efecto del injerto de chile manzano sobre CM-334 en las variables de rendimiento, morfología y calidad de fruto

El efecto del injerto en plantas de chile manzano fue estadísticamente significativo para la variable número de frutos con un promedio de 26.8 frutos en plantas injertadas; mientras que las plantas sin injertar tuvieron 19.28 frutos por planta, lo que representa el 28 % menos que una planta injertada; de igual manera el efecto del injerto en plantas de chile manzano fue mejor que el de las plantas sin injertar en las variables de peso total de frutos por planta y rendimiento con un peso total de frutos por planta promedio de 1.873 kg y un peso por fruto promedio de 70.37 g, las plantas sin injertar tuvieron un 34 % y 6 % menos que el valor promedio de las plantas injertadas en las variables mencionadas, respectivamente (Cuadro 9). Lo anterior indica que es recomendable el

uso de plantas injertadas para el establecimiento de plantaciones de chile manzano; sin embargo, se debe tomar en cuenta que el injerto infirió precocidad a las plantas injertadas, ya que tuvieron frutos maduros tres semanas antes que las plantas sin injertar, lo que se reflejó en un mayor valor de las variables mencionadas. La variable peso promedio por fruto no tuvo diferencias significativas estadísticamente, su valor promedio es de 68.39 g en plantas injertadas y sin injertar. El rendimiento presentó una correlación altamente significativa con el número de frutos (0.89900**) y peso total de frutos por planta (1.00000**) (Cuadro 12).

Cuadro 9. Efecto del injerto de empalme con pinza de plástico en el rendimiento de plantas de chile manzano injertadas sobre CM-334.

FV	**FT No. de frutos**	**PF (g)**	**P·F (g)**	**R (t·ha^{-1})**
Plantas injertadas	26.857**a**^{t}	1873.43**a**	70.375**a**	11.7089**a**
Plantas sin injertar	19.286**b**	1273.29**b**	66.422**a**	7.9580**b**
CV	10.07104	7.369485	9.526275	7.369485
CME	5.3988095	13444.012	42.455516	0.5251567
MEDIA	23.07143	1573.357	68.39808	9.833482
DMSH	2.7061	135.04	7.5885	0.844

FV: fuente de variación; CV: coeficiente de variación; CME: cuadrado medio del error; DMSH: diferencia mínima significativa honesta; FT: frutos totales por planta; PF: peso total de frutos por planta; P·F: peso promedio de fruto; R: rendimiento promedio. Comparación de medias con la prueba de Tukey a un nivel de significancia de α=0.05. ^{t}Medias con la misma letra en cada columna son estadísticamente iguales.

El efecto del injerto en plantas de chile manzano no fue estadísticamente significativo para las variables diámetro de fruto y volumen de fruto, mismas que tuvieron una media de 5.45 cm y 93.47 ml. Para la variable longitud de fruto se tuvo un mejor efecto en plantas injertadas con un promedio de 5.35 cm, alrededor de 0.5 cm más que la longitud de frutos de plantas sin injertar; de igual manera, el volumen de los frutos de

plantas injertadas, con un promedio de 95.85 ml, fue estadísticamente diferente al de los frutos de plantas sin injertar con una media de 91.08 ml. En general el número de lóculos fue de alrededor de 3 para todos los tratamientos evaluados en este capítulo (Cuadro 10).

Cuadro 10. Efecto del injerto de empalme con pinza de plástico en la morfología y calidad de fruto de plantas de chile manzano injertadas sobre CM-334.

FV	LF (cm)	DF (cm)	VF (ml)	NL No. de lóculos	GP (mm)	NS No. de semillas	Peso de semilla (g)
Plantas injertadas	5.354**a**[t]	5.503**a**	95.858**a**	3.000**a**	5.821**a**	66.071**b**	0.584**b**
Plantas sin injertar	4.880**b**	5.398**a**	91.088**a**	2.571**b**	5.286**b**	92.286**a**	0.758**a**
CV	3.145	3.050	9.985	11.419	5.557	6.640	8.097
CME	0.026	0.028	87.115	0.101	0.095	27.637	0.003
MEDIA	5.117	5.450	93.473	2.786	5.554	79.179	0.671
DMSH	0.187	0.194	10.870	0.371	0.359	6.123	0.063

FV: fuente de variación; LF: longitud de fruto; DF: diámetro de fruto; VF: volumen de fruto; NL: número de lóculos; GP: grosor de pericarpio; NS: número de semillas por fruto; PS: peso de semillas por fruto. DMSH: diferencia mínima significativa honesta. Comparación de medias con la prueba de Tukey a un nivel de significancia de α=0.05. [t]Medias con la misma letra en cada columna son estadísticamente iguales.

El injerto de chile manzano sobre el portainjerto serrano "Criollo de Morelos 334" acortó el tiempo de producción de fruto, las plantas injertadas mostraron precocidad de entrada a producción de tres semanas con respecto a plantas de chile manzano sin injertar. Forner (1984) señala a la precocidad de entrada a producción como un aspecto de importancia económica que se encuentra muy influenciado por el portainjerto.

Cuadro 11. Coeficientes de correlación de Pearson. Variables de rendimiento y calidad de fruto evaluadas en el experimento 1: niveles de poda en plantas de chile manzano injertadas sobre el portainjerto CM-334.

	PF	**P·F**	**R**	**LF**	**DF**	**VF**	**NL**	**GP**	**NS**	**PS**
NF	**0.93090****	**0.17255**	**0.93090****	0.00172	0.21599	0.04536	-0.60427*	-0.10439	-0.29535	-0.01873
PF		0.51335*	**1.00000****	0.25927	0.53519*	0.37054	-0.56924*	-0.09017	-0.29095	0.10917
P·F			0.51335*	**0.73993****	**0.95171****	**0.93993****	-0.14430	-0.05012	-0.08572	0.36074
R				0.25927	0.53519*	0.37054	-0.56924*	-0.09017	-2.9095	0.10917
LF					**0.73459****	**0.85055****	-0.02331	-0.40036	-0.42940*	0.02765
DF						**0.93068****	-0.16743	-0.01850	-0.18480	0.29927
VF							-0.10369	-0.15276	-0.19063	0.28604
NL								0.36148	0.26988	-0.09653
GP									0.32612	0.02637
NS										0.69184*

FT: Frutos totales por planta; PF: peso total de frutos por planta; P·F: peso promedio de fruto; R: rendimiento promedio; LF: longitud de fruto; DF: diámetro de fruto; VF: volumen de fruto; NL: número de lóculos; GP: grosor de pericarpio; NS: Número de semillas por fruto; PS: peso de semillas pro fruto. *correlación significativa (P≤0.05), **correlación altamente significativa (P<0.0001).

Cuadro 12. Coeficientes de correlación de Pearson. Variables de rendimiento y calidad de fruto evaluadas en el experimento 2: efecto del injerto de chile manzano sobre el portainjerto CM-334.

	PF	**P·F**	**R**	**LF**	**DF**	**VF**	**NL**	**GP**	**NS**	**PS**
NF	**0.89900****	-0.02726	**0.89900****	0.73061*	0.04626	-0.11982	0.64022*	0.50563	-0.82356*	-0.70714*
PF		0.40793	**1.00000****	0.83003*	0.42663	0.28218	0.73357*	0.58551*	**-0.91387****	-0.80697*
P·F			0.40793	0.33857	**0.90994****	0.83905*	0.37394	0.26020	-0.35379	-0.34828
R				0.83003*	0.42663	0.28218	0.73357*	0.58551*	**-0.91387****	-0.80697*
LF					0.44007	0.29851	0.52172	0.64142*	-0.83385*	-0.81093*
DF						0.73780*	0.36341	0.30548	-0.35733	-0.36435
VF							0.17359	0.36377	-0.23090	-0.27758
NL								0.08048	-0.72187*	-0.51406
GP									-0.57408*	-0.77263*
NS										**0.93185****

FT: Frutos totales por planta; PF: peso total de frutos por planta; P·F: peso promedio de fruto; R: rendimiento promedio; LF: longitud de fruto; DF: diámetro de fruto; VF: volumen de fruto; NL: número de lóculos; GP: grosor de pericarpio; NS: Número de semillas por fruto; PS: peso de semillas pro fruto. *correlación significativa (P≤0.05), **correlación altamente significativa (P<0.0001).

3.3 Porcentaje de colonización de micorrizas

Mediante un microscopio compuesto se observaron segmentos de raíz de cuatro plantas provenientes de profundidades de 0 a 10 y 10 a 20 cm. Por cada planta muestreada se tuvieron doce segmentos de ambas profundidades y cada segmento representó el 8.33 % de colonización cuando se observó por lo menos la presencia de una hifa, espora o vesícula que indicara la presencia de los hongos arbusculares inoculados (*G. clarum, G. etunicatum, G. intraradices, E. columbiana*).

De las muestras tomadas se encontró que existe en promedio 60.17 % de colonización de hongos arbusculares en plantas de chile manzano sembradas en bolsas de polietileno negro de 50 x 50 cm rellenas con tezontle rojo nuevo hasta la mitad y en la parte superior una mezcla de tezontle rojo nuevo y composta en proporción 2:1. Del 60.17 % promedio de colonización de micorrizas por planta, a una profundidad de 0-10 cm se registró una colonización promedio de 26.97 % mientras que a una profundidad de 10-20 cm la colonización promedio fue mayor con el 33.2 %.

Pimentel (2006) señala que no existe colonización de hongos arbusculares en el cultivo de jitomate en tezontle rojo y fertirriego a concentraciones de 100 y 75 % de la solución nutritiva de Steiner modificada por Pérez y Castro (1999), ya que los niveles de fósforo de la solución nutritiva no favorecieron su establecimiento en el sistema radical de las plantas. Sólo en la concentración de 50 % de la solución nutritiva se logró el 8 % de la colonización total. Es posible que el porcentaje de colonización de hongos arbusculares en raíces del portainjerto CM-334 fue elevado en comparación al encontrado por Pimentel (2006) debido a que la mezcla de tezontle y composta como sustrato generó un ambiente adecuado para la interacción hongo-raíz. Es necesario

analizar el porcentaje de colonización de micorrizas a diferentes concentraciones de solución nutritiva e identificar sí realmente se tiene un aumento de colonización como resultado del uso de sustratos orgánicos o si se debió al uso de solución nutritiva al 50 %.

4. CONCLUSIONES

El chile manzano injertado sobre el portainjerto CM-334 y manejado a dos tallos tuvo el mejor efecto en rendimiento (11.5082 $t \cdot ha^{-1}$) en comparación al manejo a cuatro tallos (10.485) y el testigo a crecimiento libre (6.607), en un periodo de cosecha de 15 semanas.

Las plantas de chile manzano injertadas sobre CM-334 tienen un mayor rendimiento de fruto en comparación con plantas de chile manzano sin injertar y tienen las características de frutos comercializables, con los promedios de peso de fruto de 70.37 g, volumen de 95.85 ml, longitud de 5.35 cm y un diámetro 5.5 cm.

El injerto confiere tres semanas de precocidad a cosecha a la planta de chile manzano injertada sobre el CM-334.

El uso de micorrizas es una alternativa viable con el 60.17 % de colonización en raíces del portainjerto CM-334, en un manejo con tezontle y composta (2:1) como sustrato y uso de solución nutritiva de Steiner al 50 %.

5. LITERATURA CITADA

Almaguer, V. G. 1998. Principios de Fruticultura: Fruticultura General. Serie Textos Agronómicos. Mundi-Prensa. Universidad Autónoma Chapingo. D.F. México. 370 p.

Davis, A. R.; Perkins-Veazie, P.; Hassell, R.; Levi, A.; King, S. R.; Zhang, X. 2008. Grafting effects on vegetable quality. HortScience 43(6): 1670-1672.

Érard, P.; Odet, J. 2009. Les points sur les methodes alternatives: Le greffage du poivron. Infos-Ctfil No. 3. France. 5 p.

Fernández, P. S. P.; Liddell, C. M. 1998. Lack of evidence for translocation of resistance factors between roots and foliage of *Capsicum annuum* infected by *Phytophthora capsici*. Capsicum and Eggplant Newsletter 17: 66–68.

Forner, V. J. B. 1984. Interacciones entre el injerto y el patrón en los agrios. Hojas divulgadores. Publicaciones de Extensión Agraria. 20 p.

García-Rodríguez, M. R.; Chiquito, A. E.; Loeza, L. P. D.; Godoy, H. H.; Villordo, P. E.; Pons, H. J. L.; González, C. M. M.; Anaya, L. J. L. 2010. Producción de chile ancho injertado sobre criollo de Morelos 334 para el control de *Phytophthora capsici*. Agrociencia 44:701-709.

Hartmann, H. and Kester, D. E. 1988. Propagación de Plantas. Traducida por Marino A. A, Ph. D. Segunda edición. Editorial Continental. 760 p.

King, S. R.; Davis, A. D.; Liu, W.; Levi, A. 2008. Grafting for disease resistance. HortScience 43(6): 1673-1676.

Lee, J. 1994. Cultivation of grafted Vegetables I. Current Status, Grafting Methods, and Benefits. HortScience 29(4):235-239.

Lee, J. M.; Kubota, C.; Tsao, S. J.; Bie, Z.; Hoyos-Echeverria, P.; Morra, L.; Oda, M. 2010. Current status of vegetable grafting: Diffusion, grafting techniques, automation. Scientia Horticulturae. 127(2): 93–105.

Martínez, V. A. 2013. CM-334 como portainjerto de pimiento morrón: compatibilidad, resistencia a *Phytophthora capsici* L y desempeño agronómico. Tesis de Maestría. Instituto de Horticultura, Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. 80 p.

Pérez, G. M.; Castro, B. R. 1998. Guía técnica para la producción intensiva de chile manzano. Boletín de divulgación número 1. Programa Nacional de Investigación en Olericultura. Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, México. 17 p.

Pérez, G. M.; Castro, B. R. 2008. El Chile Manzano. Universidad Autónoma Chapingo. 128 p.

Pérez, G. M.; González, H. V. A.; Peña, L. A.; Mendoza, M. C.; Peña, V. C. C.; Sahagún, C. J. 2004. Physiological characterization of manzano hot pepper (*Capsicum pubescens* R. y P.) landraces. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 129(1): 88-92.

Pimentel, M. E. 2006. Inoculación micorrizica en cultivo de jitomate (*Lycopersicum esculentum* Mill) bajo condiciones de invernadero y fertirriego. Tesis de Maestría. Instituto e Horticultura. Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Edo. Méx. 57 p.

Rojas, L. P. C. 2008. Estudio del crecimiento de chile manzano (*Capsicum pubescens* R y P.). Tesis de Doctorado en Ciencias en Horticultura. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 90 p.

Santos, H. S. e Goto, R. 2004. Enxertia em plantas de pimentao no controle da murcha de fitoftora em ambiente protegido. Horticultura Brasileira 22(1): 45-49.

Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. (SAGARPA) (2014). El chile manzano. Consultado en línea el 15 de mayo de 2014 en:

http://www.sicde.gob.mx/portal/bin/nota.php?accion=buscar&notaId=81263127451b69ce074cac

DISCUSIÓN GENERAL

Los injertos de chile manzano sobre CM-334 tuvieron un porcentaje de prendimiento del 55 % en injertos realizados *in vitro* y 91 % en injertos realizados en cámara de prendimiento, el porcentaje de prendimiento de la unión de dos materiales, es señalado por Hartmann *et al.* (2011) como una de los indicadores de compatibilidad entre ambos materiales y las malas técnicas de injertación como una de las principales causas de supuesta incompatibilidad al aparecer, de forma aislada, porcentajes de inexactitudes en el injerto, como fue el caso de los injertos realizados *in vitro*. El injerto de chile manzano sobre CM-334 pasó por los eventos principales señalados para que un injerto sea considerado compatible de acuerdo con lo señalado por Moore (1984), hubo cohesión del injerto y portainjerto, se observó la proliferación de células de callo en la interfase del injerto en el día 13 después de realizar el proceso de injertación y en la misma fecha fue notable la rediferenciación vascular que daría origen a los haces vasculares y permitiría el flujo de agua entre el portainjerto y el injerto. Las células de callo fueron visibles hasta el día 13 después de realizar el injerto y en el último muestreo, 21 días después de injertar, aun se tuvo la presencia de espacios de aire. La presencia de espacios de aire ha sido reportada en plántulas de jitomate injertadas, donde las células parenquimatosas de la médula central se mueren formando una cavidad cubierta por una capa necrótica visible aún a los 15 días después de realizar el injerto (Fernández-García *et al.*, 2004). Durante el proceso de injertación, un corte exacto realizado en ambas porciones del injerto acelera la formación de la conexión cambial; en cambio cortes mal realizados, con herramienta inexacta o con mala técnica no impiden necesariamente la unión, pero normalmente la retardan (Esau, 1985). El diámetro de tallo fue en promedio 8 mm mayor en el sitio de unión de planas injertadas (26.1 mm) en comparación con plantas sin injertar (18.6 mm), Forner (1984) señala

que el injerto y el portainjerto adquieren frecuentemente grosores distintos, y que tal hecho no constituye una verdadera incompatibilidad. Hartmann y Kester (1988) indican que el injerto entre plantas de especies diferentes, pero del mismo género, no tiene éxito en todos los casos; sin embargo, el chile manzano, perteneciente a la especie y genero *Capsicum pubescens* injertado sobre CM-334 (*Capsicum annuum*) tienen la capacidad de concluir con éxito las fases de cohesión, proliferación de células de callo y rediferenciación vascular. El procedimiento de injertación *in vitro* permite obtener injertos de chile manzano sobre CM-334 veinticinco días antes en comparación al procedimiento de injertación en cámara de curado; sin embargo, injertar plantas en cámara de curado es un procedimiento de menor complejidad, se tiene un porcentaje de prendimiento por arriba del 90 %, las plantas son menos sensibles durante el proceso de aclimatación y con mayor vigor para el trasplante.

En la evaluación de los efectos de niveles de poda de tallos en plantas injertadas, manejadas a dos y cuatro tallos se tiene un número total de frutos por planta y un peso por fruto estadísticamente iguales, lo que no sucede con el testigo el cual al no ser podado presentó un menor número de frutos debido a que la poda disminuye la competencia entre los órganos de la planta, regulando el balance entre crecimiento reproductivo y el vegetativo (Almaguer, 1998). Por otra parte, Rojas (2008) menciona que en plantas de chile manzano sin podar se incrementa el número de frutos y disminuye el tamaño; sin embargo, los frutos de plantas sin poda tuvieron los valores más bajos en cuanto a número, peso y diámetro. Los frutos de plantas injertadas superaron el promedio las características del híbrido intervarietal de chile manzano Puebla x Zongolica (Pérez y Castro, 2008), el cual tiene un volumen de 70 ml, grosor de pericarpio de 0.52 cm en comparación con las características de los frutos obtenidos

de las plantas injertadas frutos de 95.85 ml y grosor de pericarpio de 5.82 mm, la demanda del hibrido Puebla x Zongolica es favorecida por el tamaño promedio de sus frutos, más que por el número de estos por planta, por lo que las características de los frutos obtenidos a partir de planta injertada cumplen con los requerimientos morfológicos para comercialización. Forner (1984) señala a la precocidad de entrada a producción como un aspecto de importancia económica que se encuentra muy influenciado por el portainjerto, el injerto de chile manzano sobre el protainjerto CM-334 manifestó tres semanas de precocidad a producción.

En cuanto al uso de micorrizas en el sistema de producción manejado con tezontle + composta (2:1) como sustrato y riego con la solución nutritiva de Steiner al 50 %, Pimentel (2006) señala que no existe colonización de hongos arbusculares en el cultivo de jitomate en tezontle rojo y fertirriego a concentraciones de 100 y 75 % de la solución nutritiva de Steiner modificada por Pérez y castro (1999), ya que los niveles de fosforo de la solución nutritiva no favorecieron su establecimiento en el sistema radical de las plantas. Sólo en la concentración de 50 % de la solución nutritiva se logró el 8 % de la colonización total. El porcentaje de colonización mencionado por Pimentel (2006) fue muy bajo, en comparación con el promedio de 60.17 % de colonización de hongos arbusculares en la raíz del portainjerto CM-334. Esto posiblemente se deba al uso de materia orgánica, ya que se proporcionó un mejor ambiente para la interacción hongo-raíz.

CONCLUSION GENERAL

Los resultados de la presente investigación demostraron que existe compatibilidad entre el chile manzano (*Capsicum pubescens* R. y P.) y el portainjerto chile serrano "Criollo de Morelos 334" (*Capsicum annuum*). Las plantas obtenidas a través del método de injerto en cámara de curado o *in vitro*, trasplantadas y manejadas bajo condiciones de invernadero son una alternativa de control viable para el manejo de la secadera del chile (*Phytophthora capsici*), el portainjerto CM-334 permite la disminución del uso de agroquímicos en el suelo y una menor afectación a la microflora existente, es una alternativa también para la agricultura orgánica. El injerto de chile manzano sobre CM-334 es una alternativa para el control de la secadera del chile conservando un buen rendimiento y calidad de fruto. Se sugiere continuar con la evaluación del rendimiento y calidad de frutos, ya que la planta de chile manzano es perenne y un mayor número de cosecha de frutos (corte de frutos semanales) despejaría la duda en relación a si la planta injertada mantiene los valores de las variables evaluadas a través del tiempo.

LITERATURA CITADA GENERAL

Almaguer, V. G. 1998. Principios de Fruticultura: Fruticultura General. Serie Textos Agronómicos. Mundi-Prensa. Universidad Autónoma Chapingo. D.F. México. 370 p.

Agrios, G. N. 2011. Fitopatología. Segunda edición. Limosa. 856 p.

Anaya-López, J. L.; González-Chavira, M. M.; Vilordo-Pineda, E.; Rodríguez-Guerra, R.; Rodríguez-Martínez, R.; Guevara-González, R. G.; Guevara-Olvera, L.; Montero-Tavera, V.; Torres-Pacheco, I. 2011. Selección de genotipos de chile resistentes al complejo patogénico de la marchitez. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 2(3):373-383.

Blancard, D. 2000. Enfermedades de las Cucurbitáceas. Observar, Identificar, Luchar. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. Reimpresión. 301 p.

Bosando, P. W. and Lindsay, D. L. 1991. A seedling screen for *Phytophthora* root rot of pepper, *Capsicum annuum.* Plan Disease. 75:1048-1050.

Boutherin, D. y Bron, G. 1994. Multiplicación de plantas hortícolas. Zaragoza, Acribia Editorial S.A. 225 p.

Candole, B. L.; Conner, P. J. and Ji, P. 2010. Screening *Capsicum annuum* accessions for resistance to six isolates of *Phytophthora capsici.* HortScience 45(2): 254-259.

Climet, P. S. 1985. Manual del Injertador. Editorial Sites, S. A. España. 239 p.

Cruz-Alcalá, A. 1996. Identificación de hongos causantes de pudriciones de raíz y cuello del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) en el sureste del estado de México.

Tesis de Maestría en Ciencias en Protección Vegetal. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Edo. de México. 94 p.

Davis, A. R.; Perkins-Veazie, P.; Hassell, R.; Levi, A.; King, S. R.; Zhang, X. 2008. Grafting effects on vegetable quality. HortScience 43(6): 1670-1672.

De Miguel, A. y Cebolla, V. 2005. Unión del injerto. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA). Moncada, Valencia, España. Consultado en línea el 30 de junio de 2013 en: http://www.terralia.com

Egea, G. C.; Bilotti, G.; Requena, M. E., Ezziyyani, M.; Vivo, M. J. M.; Candela, M. E. 2008. Pepper morphological traits related with resistance to *Phytophthora capsici*. Biologia Plantarum 52: 105–109.

Érard, P.; Odet, J. 2009. Les points sur les methodes alternatives: Le greffage du poivron. Infos-Ctfil No. 3. France. 5 p.

Esau, K. 1985. Anatomía vegetal. Barcelona. Ediciones Omega. 779 p.

Fernández-García, N.; Carvajal, M.; Olmos, E. 2004. Graft union formation in tomato plants: peroxidase and catalase involvement. Annals of Botany 93:53-60.

Fernández, P. S. P.; Liddell, C. M. 1998. Lack of evidence for translocation of resistance factors between roots and foliage of *Capsicum annuum* infected by *Phytophthora capsici.* Capsicum and Eggplant Newsletter 17: 66–68.

Flores-Vindas, E. 1999. La planta, estructura y función. Vol 2. Libro Universitario Regional (LUR). Costa Rica. 884 p.

Forner, V. J. B. 1984. Interacciones entre el injerto y el patrón en los agrios. Hojas divulgadores. Publicaciones de Extensión Agraria. 20 p.

González, J. 1999. Injerto en hortalizas. In: Vilarnau, A. y González, J. (eds). Planteles: semilleros y viveros. Barcelona, Ediciones Horticultura. pp. 121-128.

García-Rodríguez, M. R.; Chiquito, A. E.; Loeza, L. P. D.; Godoy, H. H.; Villordo, P. E.; Pons, H. J. L.; González, C. M. M.; Anaya, L. J. L. 2010. Producción de chile ancho injertado sobre criollo de Morelos 334 para el control de *Phytophthora capsici*. Agrociencia 44:701-709.

Garner, J. R. 1983. Manual del injertador. Madrid, Mundi-prensa, 338 p.

Godínez, V. D.; Rocha, S. M.; Sepúlveda, G. E.B.; Lara, R. J.; Rojas, M. R.; Zavaleta, M. E. 2008. Phenylalanine ammonia Iyase activity in chili CM-334 infected by *Phytophthora capsici* and *Nacobbus aberrans*. European Journal of Plant Pathology 120:299-303.

González, P. E.; Yáñez, M. M.; Santiago, S. V.; Montero, P. A. 2004. Biodiversidad fungosa en la marchitez del chile y algunos factores involucrados en Tlacotepec de José Manzo, El verde, Puebla. Agrociencia 38:653-661.

Guerrero-Moreno, A.; Laborde, J. 1980. Current status of pepper breeding for resistance to *Phytophthora capsici* in México. pp. 52-56. *In*: Synopses of the 4th Meeting of the Capsicum Working Group of Eucarpia I. V. T. 14-16 October 1980, Wageningen. The Netherlands. 52-56 p.

Hartmann, H. T.; Kester, D. E.; Davies, F. T. Jr.; Geneve, R. L. 2011. Hartmann and Kester´s Plant Propagation: Principles and Practice. 8va edic. Prentice-Hall. 915 p.

Hartmann, H. and Kester, D. E. 1988. Propagación de Plantas. Traducida por Marino A. A, Ph. D. Segunda edición. Editorial Continental. 760 p.

Hartmann, H.; Kester, D. and Davis, F. 1990. Plant Propagation, Principles and Practices. New Jersey, Prentice-Hall. 647 p.

Johkan, M.; Oda, M.; Mori, G. 2008. Ascorbic acid promotes graft-take in sweet pepper plants (*Capsicum annuum* L.). Scientia Horticulturae 116: 343-347.

King, S. R.; Davis, A. D.; Liu, W.; Levi, A. 2008. Grafting for disease resistance. HortScience 43(6): 1673-1676.

Kobayashi, K. (2005). Vegetable grafting robot. Research Journal of Food and Agriculture 28:15–20.

Kubota C.; McClure M. N.; Kokalis-Burelle, M. G., Rosskopf, E. N. 2008. Vegetable grafting: history, use, and current technology status in North America. HortScience. 43(6):1664-1669.

Lee, J. M.; Oda, M. 2003. Grafting of herbaceous vegetable and ornamental crops. *In*: Horticultural Reviews. John Wiley & Sons. Vol. 28. USA, New York. 478 p.

Lee, J. 1994. Cultivation of grafted Vegetables I. Current Status, Grafting Methods, and Benefits. HortScience 29(4):235-239.

Lee, J. M.; Kubota, C.; Tsao, S. J.; Bie, Z.; Hoyos-Echeverria, P.; Morra, L.; Oda, M. 2010. Current status of vegetable grafting: Diffusion, grafting techniques, automation. Scientia Horticulturae. 127(2): 93–105.

López, M. N.; Colinas León, M.T.; Peña Valdivia, C.B.; Salinas Moreno, Y.; Fuentes Montiel, P.; Biesaga, M.; Zavaleta Mejía, E. 2010. Alterations in peroxidase activity and phenylpropanoid metabolism induced by *Nacobbus aberrans* Thorne and Allen, 1944 in chilli (*Capsicum annuum* L.) CM334 resistant to *Phytophthora capsici* Leo. Plant Soil (DOI 10.1007/s11104-010-0553-5).

Louws, F. J.; Rivard, C. L.; Kubota, C. 2010. Grafting fruiting vegetables to manage soilborne pathogens, foliar pathogens, arthropods and weeds. Scientia Horticulturae 127: 127-146.

Martínez, V. A. 2013. CM-334 como portainjerto de pimiento morrón: compatibilidad, resistencia a *Phytophthora capsici* L y desempeño agronómico. Tesis de Maestría. Instituto de Horticultura, Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. 80 p.

Minamiyama, Y.; Tsuro, M.; Kubo, T.; Hirai, M.; 2007. QTL analysis for resistance to *Phytophthora capsici* in pepper using a high density SSR–based map. Breeding Sci. 57: 129–134.

Moore, R. 1984. A model for graft compatibility-incompatibility in higher plants. American Journal of Botany 71(5): 752-758

Morra, L.; Bilotto, M. 2006. Evaluation of new rootstocks for resistance to soil-borne pathogens and productive behavior of pepper (*Capsicum annuum* L.). Journal of Horticultural Science & Biotechnology 81(3): 518-524.

Mosse. 1962. Graft-incompatibility in fruit trees. Technical Communication N. 28. Commonwealt Agricultural Bureaux Farnham Royal. Bucks, England. 36 p.

Murashige, T. y Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Plant Physiology Journal. 15: 473-497.

Oda, M. and Nakajima, T. 1992. Adesive grafting of chinese cabbage on turnip. HortScience 27(10): 1139.

Oelke, M. L.; Bosland, P. W.; Steiner, P. 2003. Differentiation of races specific resistance to *Phytophthora* root rot and roliar blight in *Capsicum annuum.* Journal American Society Horticultural Science 128:213-218.

Osuna, A. P.; Aguilar, S. J.; Fernández, P. S.; Godoy, H. H.; Corral, D. B.; Flores, M. J. P.; Borrego, P. A.; Olivas, E. 2012. Injertos en chiles tipo cayene, jalapeño y chilaca en el noroeste de Chihuahua, México. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas (3):4.

Ousmane, S.; Bosland, P.W. 2005. Inheritance of *Phytophthora* stem blight resistance as comparated to *Phytophthora* root rot and *Phytophthora* foliar blight resistance in *Capsicum annuum* L. Journal of the American Society for Horticultural Science 130(1):72-78.

Palada, M. C.; Wu, D. L. 2008. Grafting sweet peppers for production in the hotwet season. AVRDC Publication No: 09-722-e. 8 p.

Pegard, A.; Brizzard, G.; Fazari, A.; Soucaze, O.; Abad, P.; Djian, C. C. 2005. Histological characterization of resistance to different root-knot nematode species related to phenolic accumulation in *Capsicum annuum*. Phytopathology 95:158-165.

Pérez, G. M.; Castro, B. R. 1998. Guía técnica para la producción intensiva de chile manzano. Boletín de divulgación número 1. Programa Nacional de Investigación en

Olericultura. Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, México. 17 p.

Pérez, G. M.; Castro, B. R. 2008. El Chile Manzano. Universidad Autónoma Chapingo. 128 p.

Pérez, G. M.; González, H. V. A.; Peña, L. A.; Mendoza, M. C.; Peña, V. C. C.; Sahagún, C. J. 2004. Physiological characterization of manzano hot pepper (*Capsicum pubescens* R. y P.) landraces. Journal of the American Society for Horticultural Science 129(1): 88-92.

Pimentel, M. E. 2006. Inoculación micorrizica en cultivo de jitomate (*Lycopersicum esculentum* Mill) bajo condiciones de invernadero y fertirriego. Tesis de Maestría en Ciencias. Instituto de Horticultura. Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Edo. Méx. 57 p.

Privitera, R. e Siviero, P. 1999. La tecnica dell'innesto erbaceo su pomodoro. L'Informatorie Agrario 54(49):17-20.

Redondo-Juárez, E. 1986. Mecanismos de infección y patología de las plantas de chile susceptibles y resistentes al hongo *Phytophthora capsici* Leo. Tesis de Doctorado en Fitopatología. Colegio de Postgraduados, Montecillo, México. 182 p.

Rojas, L. P. C. 2008. Estudio del crecimiento de chile manzano (*Capsicum pubescens* R y P.). Tesis de Doctorado en Ciencias en Horticultura. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 90 p.

Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. (SAGARPA) (2014). El chile manzano. Consultado en línea el 15 de mayo de 2014

en:

http://www.sicde.gob.mx/portal/bin/nota.php?accion=buscar&notaId=81263127451b69ce074cac

Sass, J. E. 1968. Botanical Microtechnique. 3rd Edition. The Iowa State University Press. Ames, Iowa, USA. 227 p.

Santos, H. S. e Goto, R. 2004. Enxertia em plantas de pimentao no controle da murcha de fitoftora em ambiente protegido. Horticultura Brasileira 22(1): 45-49.

Solís, S. L.; Gómez, G. M. y Mérida, G. M. 2005. Evaluación de la injertación de tomate y su comportamiento en invernadero sobre prendimiento, enfermedades, rendimiento y calidad de fruto. pp. 1-3.

Stevenson, W. R. 2001. Podredumbre del fruto y podredumbre de las raíces. pp. 11. *En*: Compendio de Plagas y Enfermedades del Tomate. Jones, J.B.; Jones, J.P.; Stall, R.E.; Zitter, T.A. (Eds). Ediciones Mundi-Prensa. APS Press. St. Paul Minnesota, United States of America. Edición en Español.

Sy, O.; Bosland, P. W.; Steiner, R. 2005. Inheritance of *Phytophthora* stem blight resistance as compared to *Phytophthora* root rot and *Phytophthora* foliar blight resistance in *Capsicum annuum* L. Journal of the American Society for Horticultural Science 130:75-78.

Tahboud, M. B.; Sanogo, S.; Bosland, P. W.; Murray, L. 2008. Heat level in chile pepper in relation to root and fruit infection by *Phytophthora capsici*. HortScience 43(6): 1846-1851.

Trujillo-Viramontes, F.; Zavaleta-Mejía, E.; Rojas-Martínez, R. I.; Lara, J. 2005. Tiempo de inoculación y nivel de inoculo, factores determinantes para el rompimiento de resistencia a *Phytophthora capsici* inducido por *Nacobbus aberrans* en chile (*Capsicum annuum*). Nematropica 35: 37:44.

Vargas, E. M. T.; Zavaleta-Mejía, E.; Hernández, A. A. M. 1996. Rompimiento de resistencia a *Phytophthora capsici* Leo, en chile (*Capsicum annuum* L.) serrano CM-334 por *Nacobbus aberrans* Thorne y Allen. Nematropica 26: 159-166.

Walker, S. J.; Bosland, P. W. 1999. Inheritance of *Phytophthora* root rot and foliar blight resistance in pepper. Journal of the American Society for Horticultural Science. 124(1):14-18.