

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA
INSTITUTO DE HORTICULTURA



CM-334 COMO PORTAINJERTO DE PIMIENTO MORRÓN: COMPATIBILIDAD, RESISTENCIA A *Phytophthora capsici* L. Y DESEMPEÑO AGRONÓMICO

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

PRESENTA:

ANDRÉS MARTÍNEZ VERA

CHAPINGO; MÉXICO, JUNIO DE 2013.



COLECCIÓN GENERAL ACADÉMICA
DIRECCIÓN DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXÁMENES PROFESIONALES



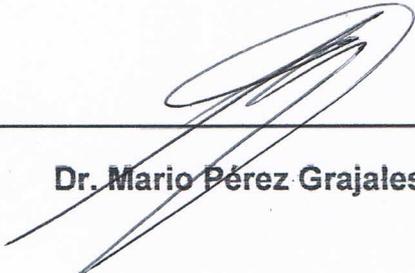
Investigación y Posgrado
Instituto de Horticultura

**CM-334 COMO PORTAINJERTO DE PIMIENTO MORRÓN:
COMPATIBILIDAD, RESISTENCIA A *Phytophthora capsici* L. Y
DESEMPEÑO AGRONÓMICO**

Tesis realizada por **Andrés Martínez Vera**, bajo la dirección del comité asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

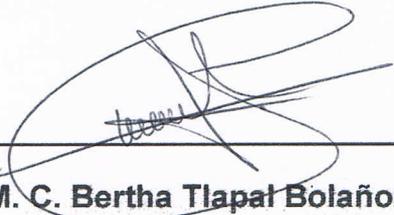
MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

DIRECTOR:



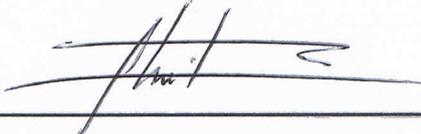
Dr. Mario Pérez Grajales

ASESOR:



M. C. Bertha Tlapal Bolaños

ASESOR:



Dr. Edilberto Avitia García

Chapingo; México, Junio de 2013.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología** por el apoyo económico otorgado para completar mis estudios de maestría en el periodo 2011-2012.

A la **Universidad Autónoma Chapingo** a través del **Instituto de Horticultura** por las facilidades otorgadas para realizar mis estudios de maestría y por la calidad de su programa.

Al comité asesor de este trabajo: **Dr. Mario Pérez Grajales** y al **Dr. Edilberto Avitia García** del Instituto de Horticultura y a la **M. C. Bertha Tlapal Bolaños** del Departamento de Parasitología Agrícola, por su asesoría, correcciones y contribuciones para llevar a cabo este proyecto.

Un agradecimiento especial al **Dr. Luigi Morra** (Istituto Sperimentale per l'Orticultura, Italia), al **Dr. Mayasuki Oda** (Osaka Prefecture University, Japón) por su disposición y valiosas recomendaciones en la parte crítica de la primera fase del proyecto y al **Dr. Jorge M. Valdés Carrasco** del Colegio de Posgraduados por su valioso apoyo en el trabajo de microfotografía.

Al personal técnico en el laboratorio de Nutrición de Frutales y los invernaderos de cristal del Departamento de Fitotecnia y el laboratorio de Micología Agrícola del Departamento de Parasitología Agrícola.

A mis amigos que me ayudaron en la fase de campo y de laboratorio.

DEDICATORIA

A mis padres Esther y Reyes

A mis hermanas

A Kike y Mir

DATOS BIOGRÁFICOS

Andrés Martínez Vera, nació el 5 de noviembre de 1985 en la localidad de Temoac en el estado de Morelos, México. Es Ingeniero Mecánico Agrícola por la Universidad Autónoma Chapingo de donde egresó en 2007. Ha realizado estancias académicas en la École Supérieure d'Agriculture de Purpan (Francia, 2006) y Language College of ISS (Canadá, 2009). Tiene experiencia profesional en evaluación de tractores agrícolas en campo y construcción de invernaderos en empresas privadas. En 2011, inició sus estudios de Maestría en Ciencias en Horticultura en el Instituto de Horticultura de la Universidad Autónoma Chapingo. Actualmente trabaja para el Comité Estatal de Sanidad Vegetal del Estado de Morelos.

CONTENIDO

INDICE DE FIGURAS	VI
INDICE DE CUADROS	VIII
RESUMEN GENERAL	1
GENERAL ABSTRACT	2
INTRODUCCION GENERAL	3

CAPITULO I. SINCRONIZACIÓN, COMPATIBILIDAD Y ANATOMÍA DEL PIMIENTO MORRÓN INJERTADO SOBRE CRIOLLO DE MORELOS 334..... 6

RESUMEN	6
ABSTRACT.....	7
1. INTRODUCCIÓN	8
2. MATERIALES Y MÉTODOS	10
2.1 LOCALIZACIÓN DEL SITIO EXPERIMENTAL.....	10
2.2 PRODUCCIÓN DE PLÁNTULA	10
2.3 PRUEBAS DE GERMINACIÓN Y SINCRONIZACIÓN DE LA PLÁNTULA PARA LA INJERTACIÓN	10
2.4 PROCESO DE INJERTACIÓN	11
2.5 PORCENTAJE DE PRENDIMIENTO	17
2.6 ANATOMÍA DEL TALLO EN EL PROCESO DE PRENDIMIENTO DE LA PLÁNTULA INJERTADA	17
2.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	18
3. RESULTADOS.....	19
3.1 PORCENTAJE DE GERMINACIÓN Y SINCRONIZACIÓN DE PLÁNTULAS.....	19
3.2 PORCENTAJE DE PRENDIMIENTO	20
3.3 ANATOMÍA DE LOS TEJIDOS VASCULARES DE LA PLÁNTULA INJERTADA	20
4. DISCUSIÓN	24
5. CONCLUSIONES	27
6. LITERATURA CITADA	27

CAPITULO II. DESEMPEÑO AGRONÓMICO DE PIMIENTO MORRÓN INJERTADO SOBRE CRIOLLO DE MORELOS 334 PARA EL MANEJO DE *PHYTOPHTHORA CAPSICI* L..... 32

RESUMEN	32
ABSTRACT.....	33
1. INTRODUCCIÓN.....	34
2. MATERIALES Y MÉTODOS	37
2.1 LOCALIZACIÓN Y CONDICIONES DEL SITIO EXPERIMENTAL	37

2.2 MATERIAL VEGETAL	37
2.3 ESTABLECIMIENTO Y MANEJO DEL CULTIVO EN INVERNADERO	38
2.3.1 MANEJO AGRONÓMICO	38
2.3.2 RIEGO Y NUTRICIÓN	39
2.3.3 PLAGAS	39
2.4 DISEÑO EXPERIMENTAL Y TRATAMIENTOS	40
2.4.1 EXPERIMENTO UNO	40
2.4.2 EXPERIMENTO DOS	40
2.4.2.1 OBTENCIÓN DEL AISLAMIENTO DE <i>PHYTOPHTHORA CAPSICI</i> Y PREPARACIÓN DEL INÓCULO	41
2.4.2.2 INOCULACIÓN CON <i>PHYTOPHTHORA CAPSICI</i>	42
2.4.2.3 EVALUACIÓN DE LA ENFERMEDAD Y RE-AISLAMIENTO DEL PATÓGENO ...	43
2.5 VARIABLES EVALUADAS EN LOS DOS EXPERIMENTOS	45
2.5.1 VARIABLES MORFOLÓGICAS	45
2.5.2 VARIABLES DEL RENDIMIENTO Y SUS COMPONENTES	46
2.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	47
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	48
3.1 EFECTO DEL CM-334 COMO PORTAINJERTO DE PIMIENTO MORRÓN EN LAS VARIABLES MORFOLÓGICAS Y DE RENDIMIENTO	48
3.2 EFECTO DE <i>PHYTOPHTHORA CAPSICI</i> EN LAS VARIABLES MORFOLÓGICAS Y DE RENDIMIENTO	54
3.2.1 EVALUACIÓN DE LA ENFERMEDAD Y RE-AISLAMIENTO DEL PATÓGENO	57
4. CONCLUSIONES.....	62
5. CONCLUSIONES GENERALES.....	62
6. LITERATURA CITADA	63
7. LITERATURA CITADA GENERAL	68
8. ANEXO.....	70

INDICE DE FIGURAS

CAPITULO UNO

FIGURA 1. Diagrama esquemático del método de injerto de empalme con grapa de plástico para injertar las plántulas de pimiento morrón (*Capsicum annuum*). .. 13

FIGURA 2. Esquema de sincronización del Criollo de Morelos 334 y el pimiento morrón (*Capsicum annuum* cv. Cannon)..... 15

FIGURA 3. Correlación de las condiciones de aclimatación de las plantas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* cv. Cannon) injertadas sobre el CM-334. La temperatura del aire se mantuvo en 25 a 30°C. 16

FIGURA 4. Días después de la germinación (ddg) y días después de que la planta alcanza un diámetro de tallo (dddt) de 1.8 mm de chile tipo serrano CM-334 y pimiento morrón (*Capsicum annuum* cv. Cannon). 19

FIGURA 5. Porcentaje de prendimiento de la combinación de injerto Cannon sobre CM-334 y el homoinjerto de Cannon. Cada barra representa el promedio de cuatro repeticiones y la línea en cada barra representa la desviación estándar, * significativamente diferente (prueba de t , P 0.05). 20

FIGURA 6. Secciones transversales de la unión del injerto en pimiento morrón Cannon/CM-334 (A, C, E) y pimiento Cannon/Cannon (B, D, F). A y B, a los 10 días después de injertación; C y D, a los 15 días después de injertación; E y F a los 20 días después de injertación. Las flechas indican la zona de unión de injerto, a menos que se indique una letra; x, xilema; f, floema; m, médula; c, corteza. 22

FIGURA 7. Secciones longitudinales de la unión del injerto en pimiento morrón Cannon/CM-334 (A, C, E) y pimiento Cannon/Cannon (B, D, F). A y B, a los 10 días después de injertación; C y D, a los 15 días después de injertación; E y F a los 20 días después de injertación. Las flechas indican la zona de unión de injerto; x, xilema; c, corteza; m, médula. 23

CAPITULO DOS

FIGURA 1. Producción del inóculo de *Phytophthora capsici* en laboratorio. Siembra de la cepa en medio V8® (A), inducción de esporangios (B), esporangios formados (C) e inducción de liberación de zoosporas (D)..... 42

FIGURA 2. Inoculación con una suspensión de zoosporas de *Phytophthora capsici* L. a plantas injertadas de pimiento morrón sobre CM-334 (A) y plantas de pimiento morrón sin injertar (B)..... 43

FIGURA 3. Sistema radical de pimiento morrón (*Capsicum annuum* cv. Cannon) injertado sobre CM-334 (izquierda) y sin injertar (derecha)..... 51

FIGURA 4. Diferentes tipos de interacción en la interface de injerto de plantas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* cv. Cannon) sobre CM-334. Plantas con tallos de portainjerto e injerto diferentes (A, B) y plantas con tallos de portainjerto e injerto similares (C, D)..... 51

FIGURA 5. Incidencia de la enfermedad (%) en un grupo de 80 plantas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* cv. Cannon) sin injertar e injertadas sobre CM-334. Las plantas fueron inoculadas dos veces con *P. capsici* (a un intervalo de 23 días entre cada inoculación). Se utilizó una suspensión de 5 mL de zoosporas de *P. capsici* (2000 zoosporas mL) en la primera inoculación y de 2 mL de zoosporas de *P. capsici* (50 000 zoosporas mL) en la segunda inoculación. 58

FIGURA 6. Progreso de la enfermedad observado en las primeras plantas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* cv. Cannon) sin injertar con síntomas tras la primera inoculación artificial de *Phytophthora capsici*. 59

FIGURA 7. Plantas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* cv. Cannon) injertadas sobre CM-334 pocos días después de ser inoculadas (izquierda) y en fructificación (centro y derecha) sin ningún síntoma del ataque de *Phytophthora capsici*. 60

FIGURA 8. Esporangióforo y su esporangio con papila conspicua en forma alimonada de *Phytophthora capsici* (A), esporangios maduros con zoosporas diferenciadas en su interior (B)..... 60

INDICE DE CUADROS

CAPITULO UNO

CUADRO 1. Cronograma para la deshidratación, aclaramiento e inclusión en parafina de las muestras de tejidos colectados en un procesador de tejidos automático..... 18

CAPITULO DOS

CUADRO 1. Cuadros medios de los análisis de varianza para las variables morfológicas al evaluar el efecto del portainjerto CM-334..... 48

CUADRO 2. Comparación de medias de las condiciones de la planta para las variables morfológicas al evaluar el efecto del portainjerto CM-334. 49

CUADRO 3. Cuadros medios de los análisis de varianza para las variables indicadoras de rendimiento al evaluar el efecto del portainjerto CM-334. 52

CUADRO 4. Comparación de medias de las condiciones de injerto de la planta para las variables de rendimiento al evaluar el efecto del portainjerto CM-334. ... 53

CUADRO 5. Cuadros medios de los análisis de varianza para las variables morfológicas al evaluar el efecto de *Phytophthora capsici*..... 54

CUADRO 6. Cuadros medios de los análisis de varianza para las variables indicadoras de rendimiento al evaluar el efecto de *Phytophthora capsici*. 55

CUADRO 7. Comparación de medias de las condiciones de inóculo de la planta para las variables morfológicas al evaluar el efecto de *Phytophthora capsici*..... 56

CUADRO 8. Comparación de medias de las condiciones de injerto de la planta para las variables de rendimiento al evaluar el efecto de *Phytophthora capsici*..... 57

CM-334 COMO PORTAINJERTO DE PIMIENTO MORRÓN: COMPATIBILIDAD, RESISTENCIA A *Phytophthora capsici* L. Y DESEMPEÑO AGRONÓMICO

Andrés Martínez Vera¹ y Mario Pérez Grajales²

RESUMEN GENERAL

En México, el pimiento morrón es la segunda hortaliza de exportación con un volumen de producción de 675 112 ton y un valor aproximado de 668 millones de dólares en 2012. Sin embargo, *Phytophthora capsici* constituye una seria limitante para su cultivo, por lo que el objetivo de este trabajo fue estudiar la compatibilidad del pimiento morrón (*Capsicum annuum* cv. Cannon) injertado sobre el chile Criollo de Morelos-334 (CM-334) para evaluar su resistencia y desempeño agronómico. Después de la injertación, la tasa de sobrevivencia fue 14 % más baja en comparación con homoinjertos de pimiento morrón ($P < 0.05$) y se distinguieron tres eventos principales durante el desarrollo estructural de la unión del injerto. Las plantas fueron cultivadas bajo el sistema de manejo Español por seis meses después del trasplante en invernadero con riego por goteo. El pimiento morrón cv. Cannon fue susceptible a la cepa 6143 de *P. capsici*. Sin embargo, el CM-334 usado como portainjerto fue capaz de otorgarle resistencia al patógeno a las plantas injertadas, ya que su crecimiento y rendimiento no difiere con respecto a plantas injertadas que no fueron expuestas al patógeno ($P < 0.05$) en la evaluación agronómica. Al estudiar el efecto individual del portainjerto, los valores promedio de las variables morfológicas y de rendimiento fueron menores en plantas injertadas *versus* plantas sin injertar ($P < 0.05$), con una disminución del rendimiento de 40 %. 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.

PALABRAS CLAVE: *Capsicum annuum*, marchitez del chile, injerto de hortalizas, resistencia a enfermedades

1 Autor de la tesis

2 Director de tesis

CM-334 AS BELL PEPPER ROOTSTOCK: COMPATIBILITY, RESISTANCE TO *Phytophthora capsici* L. AND AGRONOMIC PERFORMANCE

Andrés Martínez Vera¹ Mario Pérez Grajales²

GENERAL ABSTRACT

Bell peppers are Mexico's second largest vegetable export, with a production volume of 675,112 ton valued at approximately 668 million (US) dollars in 2012. However, *Phytophthora capsici* constitutes a limiting factor to bell pepper production. The objective of this work was focused on studying the graft compatibility of bell pepper (*Capsicum annuum* cv. Cannon) onto Serrano type Criollo de Morelos-334 (CM-334) to evaluate resistance to *P. capsici* and agronomic performance. After grafting, the survival rate of the bell pepper/CM-334 combination was 14% lower than homo-grafted bell pepper plants ($P < 0.05$). During the structural development of the graft union, three major events were recognized. After transplanting, plants were grown under the Spanish plant trellis system for six months in a greenhouse, with drip irrigation. Bell pepper cv. Cannon was susceptible to the highly virulent *Phytophthora capsici* strain 6143. However, when used as bell pepper rootstock, CM-334 was able to grant the grafted plants resistance to the pathogen and no differences were observed for growth and yield parameters compared to those of grafted plants that were not exposed to the pathogen ($P < 0.05$), in the agronomic evaluation. Also, the individual effect of the rootstock was studied and the average values of morphological and yield parameters were lower in grafted plants than in ungrafted plants ($P < 0.05$), with a yield reduction of 40 %. CM-334 as bell pepper rootstock is a feasible alternative only under high pressure pathogen conditions, in cropping systems where there are high chances of rapid spread of the disease, and/or fungicide use is restrictive.

KEYWORDS: *Capsicum annuum*, Phytophthora blight, vegetable grafting, disease resistance

INTRODUCCION GENERAL

Las especies de *Capsicum annuum* L. var. *annuum*; que incluyen a los cultivares jalapeño, poblano, Anaheim, ancho, bell, big Jim, cayenne y los tipo serrano, fueron originalmente descritos por Linnaeus en *Species Plantarum*. La información arqueológica y los análisis fitogeográficos y genéticos, llevaron a los investigadores a sugerir que *Capsicum annuum* fue domesticado en México o el norte de Centro América (Russo, 2012).

En la actualidad, prácticamente en todo el territorio mexicano se cultiva una amplia variedad de chiles; sin embargo, los chiles picantes y de relleno dominan el mercado de consumo nacional. El pimiento morrón (*Capsicum annuum* var. *annuum*) también conocido como chile bell o bell pepper, es el cuarto cultivo en volumen de producción después del tipo jalapeño, serrano y poblano (SIAP, 2010), constituye la segunda hortaliza de exportación con un valor de producción aproximado de 668 millones de dólares y 675 112 ton (SICAGRO-SAGARPA, 2012) por lo que su cultivo es una importante fuente de divisas y empleos. El destino de exportación principal es Estados Unidos, país que factura más del 99% del pimiento morrón que se exporta (SICAGRO-SAGARPA, 2012). El estado de Sinaloa concentra 96% de la producción de pimiento morrón, aunque también es cultivado en Baja California, Baja California Sur, Jalisco, Sonora y Morelos, entre otros estados donde existen buenas condiciones para su cultivo (SIAP, 2010), las cuales también favorecen al desarrollo de enfermedades fungosas.

La marchitez del chile causada por *Phytophthora capsici* es una de las enfermedades fungosas limitantes en la producción de pimiento morrón y se encuentra distribuida en todo el mundo (Bosland y Lindsey, 1991; Ristaino y Johnston, 1999; Sy *et al.*, 2005;) en un rango amplio de hospedantes (Hausbeck y Lamour, 2004). México no es la excepción y a *P. capsici* le favorecen las condiciones de clima subtropical de las regiones productoras, en donde puede alcanzar incidencias altas cercanas a 100 % (González-Pérez *et al.*, 2004). Para el

manejo de la enfermedad se reportan métodos culturales y químicos. Este último, ha dependido fuertemente del uso de fungicidas de sitio específico como metalaxyl y su enantiómero mefenoxam; lo cuales pertenecen al grupo de las fenilamidas que actúan en la síntesis de ácidos nucleicos, por lo que han surgido poblaciones del patógeno resistentes a estos ingredientes activos (Hausbeck y Lamour, 2004). El uso de bromuro de metilo como fumigante del suelo conservó niveles aceptables en el manejo de la enfermedad, pero su prohibición a partir del 2005 a consecuencia del daño severo al medio ambiente, lo hace improcedente.

La resistencia genética se considera una de las estrategias más efectivas en el control de plagas. Existe una diversidad genética en las especies de *Capsicum* domesticadas y silvestres para desarrollar cultivares resistentes a plagas; sin embargo, la introgresión de resistencia y al mismo tiempo mantener características hortícolas aceptables es una tarea laboriosa. Como resultado, se necesitan muchos años para liberar un cultivar resistente. La tarea es más difícil si la naturaleza genética de la resistencia es heredada cuantitativamente (Russo, 2012). 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 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-López *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*. A pesar de estas fuentes de resistencia y grandes esfuerzos de mejoramiento genético, no han sido suficientes para que actualmente exista un cultivar de pimiento morrón resistente al complejo de marchitez en condiciones de campo (Oelke *et al.*, 2003; Sy *et al.*, 2008).

Una técnica que simplifica las labores del mejoramiento genético, es la injertación de plántulas de hortalizas, tecnología hortícola única que se ha practicado por muchos años en el este de Asia para combatir problemas asociados con la

agricultura intensiva usando una superficie limitada de tierra arable. 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 aún en ausencia del patógeno o estrés biótico (Louws *et al.*, 2010), por lo que es necesario que las combinaciones portainjerto-injerto sean seleccionadas cuidadosamente para condiciones climáticas y geográficas específicas. Una selección apropiada puede ayudar a reducir la incidencia de enfermedades que afectan la raíz e incrementar y mejorar la calidad de fruto, por lo que en este trabajo se planteó evaluar el comportamiento productivo del pimiento morrón injertado sobre el portainjerto CM-334, como alternativa al manejo de la marchitez del chile ocasionada por *P. capsici*. La investigación se dividió en dos etapas, en la primera se estableció una metodología de injerto para pimiento morrón con la finalidad de estudiar su compatibilidad con el genotipo CM-334 al evaluar su prendimiento y desarrollo estructural de la unión de injerto. La segunda etapa fue para evaluar los efectos del portainjerto CM-334 y de *P. capsici* en las variables de crecimiento y de rendimiento.

CAPITULO I. SINCRONIZACIÓN, COMPATIBILIDAD Y ANATOMÍA DEL PIMIENTO MORRÓN INJERTADO SOBRE CRIOLLO DE MORELOS 334

RESUMEN

Este trabajo se enfocó en establecer una metodología de injerto para pimiento morrón (*Capsicum annuum* cv. Cannon) y estudiar su compatibilidad con la accesión mexicana Criollo de Morelos-334 (CM-334) resistente a *Phytophthora capsici* L. como portainjerto. El CM-334 alcanzó un diámetro promedio de 1.8 mm a los 44 días después de la siembra (dds) para ser injertado; mientras que el pimiento morrón lo hizo a los 40 dds. La tasa de sobrevivencia de la combinación pimiento morrón/CM-334 fue 14% más baja en comparación con homoinjertos de pimiento morrón ($P < 0.05$). Durante el desarrollo estructural de la formación de la unión del injerto, se distinguieron tres eventos principales: 1) En los primeros días después de la injertación (ddi) ocurre la cohesión del portainjerto y el injerto, 2) la formación del callo y 3) la diferenciación del sistema vascular en la interface del injerto ocurrió progresivamente de los 10 a los 20 ddi. La combinación pimiento morrón/CM-334 tiene un buen nivel de compatibilidad anatómica.

PALABRAS CLAVE: *Capsicum annuum*, Solanaceae, injerto de hortalizas, compatibilidad de injerto, anatomía de la unión de injerto

SYNCHRONIZATION, COMPATIBILITY, AND ANATOMY OF BELL PEPPER GRAFTED ONTO CRIOLLO DE MORELOS 334

ABSTRACT

This work was focused on establishing a graft methodology for bell pepper plants, and a compatibility study of bell pepper grafted onto the Mexican landrace Criollo de Morelos-334 (CM-334) resistant to *Phytophthora capsici* L. was conducted. CM-334 plants and pepper plants take 44 and 40 days after sowing (das) respectively, to reach a 1.8 mm stem diameter on average when they are ready to be grafted. The survival rate of the bell pepper/CM-334 combination was 14 % lower than homo-grafted bell pepper plants ($P < 0.05$). During the structural development of the graft union, three major events are recognized: 1) In the first days after grafting (dag), cohesion of the rootstock and the scion is established. 2) Callus formation along with 3) vascular differentiation across the graft interface develops progressively from 10 to 20 dag. The combination bell pepper/CM-334 has a good level of anatomical compatibility.

KEYWORDS: *Capsicum annuum*, Solanaceae, vegetable grafting, graft compatibility, graft union anatomy

1. INTRODUCCIÓN

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 melón (*Citrullus lanatus*) en calabaza tipo botella (*Lagenaria siceraria*) (Lee, 1994) y se ha ido adaptado a la producción orgánica así como a otros sistemas con un enfoque bioracional para minimizar la absorción de residuos de agroquímicos (Lee *et al.*, 2010). La técnica no es común en pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.). Aún en los países pioneros, en donde los patógenos del suelo que atacan las raíces no han representado un problema fitosanitario en el cultivo de pimiento morrón, la demanda de plántula injertada apenas está aumentando para combatir el incremento en la incidencia de enfermedades bacterianas (Johkan *et al.* 2008).

Generalmente, la compatibilidad del conjunto portainjerto-injerto está relacionada con la afinidad taxonómica de los materiales. El injerto en pimiento morrón se puede realizar sobre su misma especie (Érard y Odet, 2009) y *C. chinense* (Yazawa *et al.*, 1980). Las opciones de portainjertos comerciales son limitadas, las cuales son líneas de híbridos de *C. annuum* o líneas de híbridos interespecíficos *C. annuum* x *C. chinense* (Érard y Odet, 2009). Su severa incompatibilidad con portainjertos de otras solanáceas como tomate (*Solanum lycopersicum* L.) y berenjena (*Solanum melongena* L.) fueron probadas por Kawaguchi *et al.* (2008) y Tai *et al.* (2004), respectivamente.

La formación de callo y la diferenciación y conexión de los haces vasculares en la interface del injerto, son esenciales para el prendimiento exitoso de los injertos (Ogata *et al.*, 2005), ya que una conexión insuficiente de los haces vasculares entre el portainjerto y el injerto, disminuye la cantidad del flujo de agua (Torii *et al.*, 1992). Sin embargo, ni la formación de callo ni la diferenciación y desarrollo de los

haces vasculares se logra fácilmente en plantas de pimiento morrón injertadas a diferencia de otras solanáceas como el tomate y la berenjena (Johkan *et al.*, 2008), lo que hace que su prendimiento sea más complicado.

El genotipo mexicano conocido como Criollo de Morelos 334 (CM-334), tiene potencial para ser usado como portainjerto de pimiento morrón, ya que es la fuente principal de resistencia a la pudrición de la raíz por *P. capsici* que actualmente se utiliza en los programas de mejoramiento de pimiento (Ortega-Gil *et al.*, 1991; Thabuis *et al.*, 2003). Hasta la fecha, el CM-334 tiene el mayor nivel de resistencia contra todas las razas conocidas de *P. capsici* (Oelke *et al.*, 2003; Sy *et al.*, 2008; Foster y Hausbeck, 2010). Además, se ha demostrado que el CM-334 es resistente a *P. capsici* en raíces, tallos y hojas (Alcantara y Bosland, 1994; Bosland y Lindsey, 1991; Walker y Bosland, 1999) y su resistencia se mantiene en presencia de estrés por salinidad de hasta 10 dS/m (Sanogo, 2004). Aunque la resistencia a *P. capsici* es genéticamente y fisiológicamente compleja (Quirin, 2005), se han hecho esfuerzos para comprenderla y actualmente se considera que diferentes genes controlan la resistencia en raíz, tallo y follaje (Sy *et al.*, 2005; Walker y Bosland, 1999). También es resistente a los nemátodos agalladores *Meloidogyne arenaria* (Neal) Chitwood, *M. incognita* (Kafoid y White) Chitwood y *M. javanica* (Treub) Chitwood (Pegard *et al.*, 2005); sin embargo, es susceptible al nemátodo *Nacobbus aberrans* y cuando las plantas son infectadas por el nemátodo previo a la inoculación con *P. capsici*, éstas son susceptibles al oomiceto, un fenómeno conocido como “rompimiento de resistencia” (Trujillo-Viramontes *et al.*, 2005; Vargas *et al.*, 1996). En México, no hay reportes del uso del CM-334 como portainjerto de pimiento morrón; sin embargo, los dos pertenecen a la misma especie, por lo que son compatibles para ser injertados.

Este estudio planteó establecer una metodología de injerto para pimiento morrón y estudiar su compatibilidad con el genotipo CM-334 al determinar su prendimiento y observar el desarrollo estructural de la formación de la unión del injerto.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Localización del sitio experimental

La producción de plántula y el proceso de injerto se realizaron en un invernadero del Campo Experimental de la Universidad Autónoma Chapingo, ubicado en Chapingo, estado de México, a 19° 29' LN y 98°53' LO, con una altitud de 2 250 msnm.

2.2 Producción de plántula

Los materiales utilizados fueron el genotipo CM-334 que se utilizó como portainjerto y el híbrido de pimiento morrón cv. Cannon (Zeraim Gedera ®, Israel) como injerto para producción de frutos.

Las semillas del material que se utilizaron como portainjerto se sembraron en charolas de poliestireno de 60 cavidades utilizando como sustrato una mezcla de peat-moss y vermicultia (1:1, v/v) y las del material para producción de fruta se sembraron en charolas de 200 cavidades de poliestireno con el mismo sustrato. Lo anterior, con la finalidad de realizar los injertos en las charolas de 60 cavidades y tener más espacio para realizar este procedimiento. Cada tercer día se realizó el riego con una solución nutritiva preparada con Nitrofoska 12-12-12-2 (N-P-K-Mg: 1 g L⁻¹ de agua). El resto de los días el riego se realizó con agua corriente.

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

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

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

También se determinaron los días que tardaron en germinar ambos materiales y los días que tardaron en alcanzar un diámetro de 1.8 mm en el tallo medido a 1.5 cm por arriba de las hojas cotiledonares. El número de días transcurridos en que habían germinado al menos 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 igual o mayor a 1.8 mm se registró como el tiempo que tardan las plántulas en alcanzar el diámetro para ser injertadas.

2.4 Proceso de injertación

A partir de plántula sincronizada (con diámetros de tallos similares), el 19 de julio de 2012 se injertaron plántulas de la variedad de pimiento morrón cv. Cannon sobre sí mismas (homo-injerto) y plántulas de Cannon sobre Criollo de Morelos-334. Dos días previos a que las plántulas se sometieran al proceso de injertación, se suspendió el riego y se realizó una aplicación de 100 mg L^{-1} de ácido ascórbico vía foliar por día. El método usado para la injertación fue de empalme con grapa de plástico basado en una descripción hecha por Palada y Wu (2003), con algunas modificaciones:

1. Seleccionar el injerto y el portainjerto con un diámetro de tallo igual (1.8 – 2 mm) (Figura 1A).
2. Cortar el tallo del portainjerto con un ángulo de 30° ; 1.5 cm arriba de las hojas cotiledonares, 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 (Figura 1B).
3. Colocar la pinza de plástico de 10 mm de diámetro sobre 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 1C).
4. Deslizar el tallo del injerto sobre el tubo de plástico de la grapa hasta empalmarlo con el tallo del portainjerto. Si los cortes se mantuvieron paralelos, entonces se puede estar seguro de que los dos tallos están en contacto. La pinza

de plástico permanece en la plántula hasta que ésta forme callo natural y finalmente caiga en el campo (Figura 1D).

5. Aplicar 100 mg L⁻¹ de ácido ascórbico vía foliar para promover el prendimiento del conjunto portainjerto-injerto (Johkan *et al.*, 2008) (Figura 1E).

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 colocadas sobre las paredes y techo (Figuras 1F y 1G).

7. Al tercer ddi, incrementar la intensidad luminosa al retirar gradualmente las capas de polietileno negro de las paredes y techo (Figura 1H).

8. Al sexto ddi, 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 octavo día, mover las plántulas al invernadero protegiéndolas con una malla de sombreo para disminuir la intensidad luminosa (Figura 1I).

10. Cuando las plántulas ya no muestren marchitamiento, retirar la malla de sombreo y mantener esta condición por dos o tres días más, antes de realizar el trasplante.

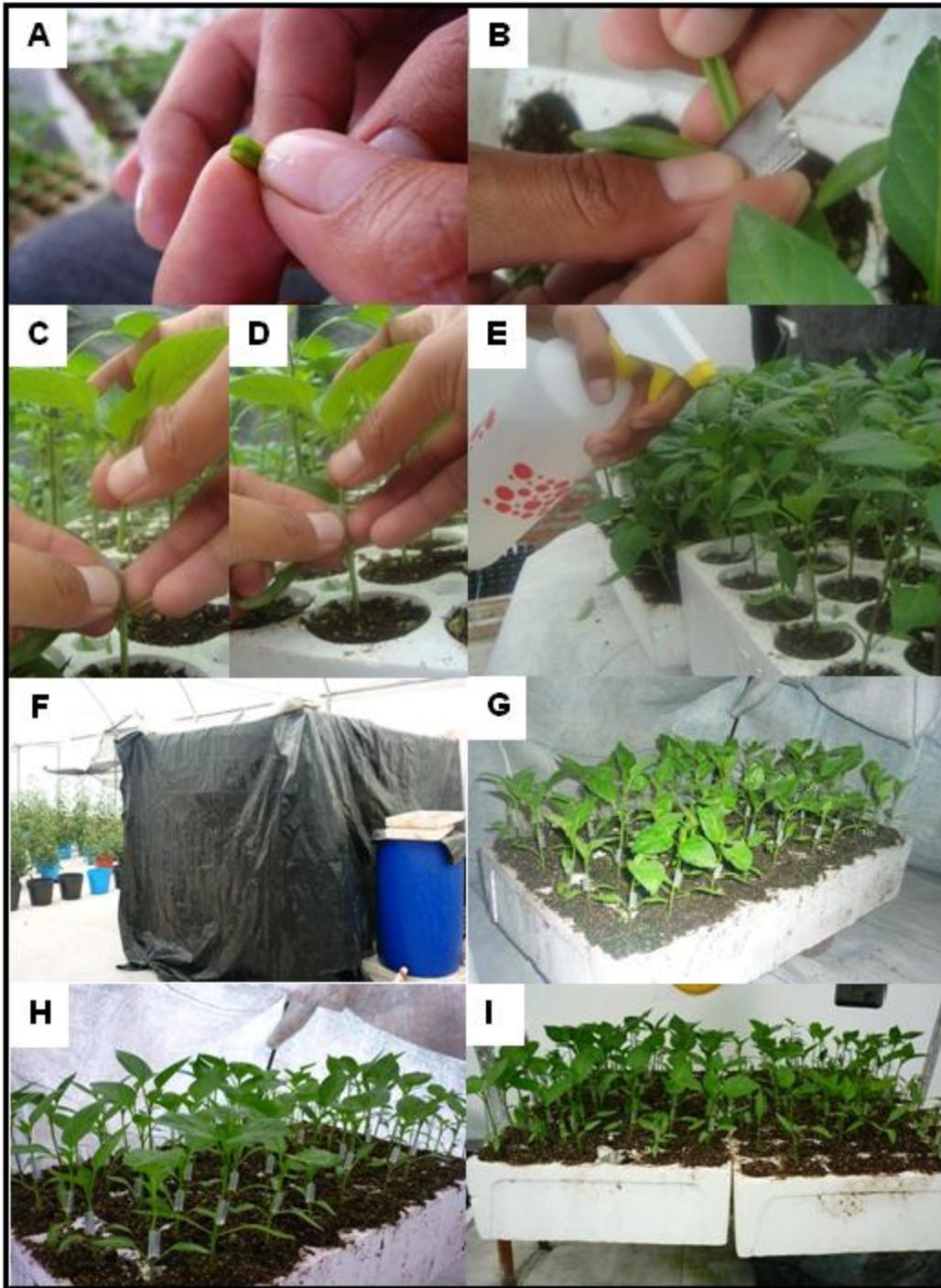


FIGURA 1. Diagrama esquemático del método de injerto de empalme con grapa de plástico para injertar las plántulas de pimienta morrón (*Capsicum annuum*).

Además de una instalación para germinar la semilla (invernadero), se utilizó una cámara de curado para asegurar las condiciones necesarias de temperatura (alrededor de los 25°C) y humedad relativa (arriba de 90%) y tener mayor éxito en el prendimiento, de la cual se desinfectaron las paredes y piso con una aplicación de sanitizante a base de cuaternario de amonio y sulfato de cobre Anibac Plus® (Ultraquímica Agrícola, México) (20 mL·L⁻¹ de agua). La cámara de curado; ubicada dentro de un invernadero de polietileno con ventilación cenital, contó con microaspersores que se encendían durante un minuto cada cinco minutos en el período de mayor intensidad solar del día (11:00 a 16:00 h). Durante los primeros días las plántulas estuvieron protegidas con una capa adicional de material ground cover blanco para evitar que el agua de los microaspersores cayera directamente sobre las plántulas.

Se estableció un cronograma para obtener plántula injertada, específicamente para el material vegetal utilizado en este estudio (Figura 2). En el día uno, se sembró el CM-334 (portainjerto) y cuatro días después; es decir en el día cinco, se sembró la variedad Cannon (injerto). Al octavo día después de la siembra (dds) emergió el CM-334 y Cannon lo hizo en el día 13. Para el día 39 a partir de la siembra del CM-334, ambos materiales alcanzaron un diámetro de tallo aproximado de 1.8 mm medido 1.5 cm arriba de las hojas cotiledonares. En este día se realizó la injertación y las plántulas se colocaron en la cámara de curado.

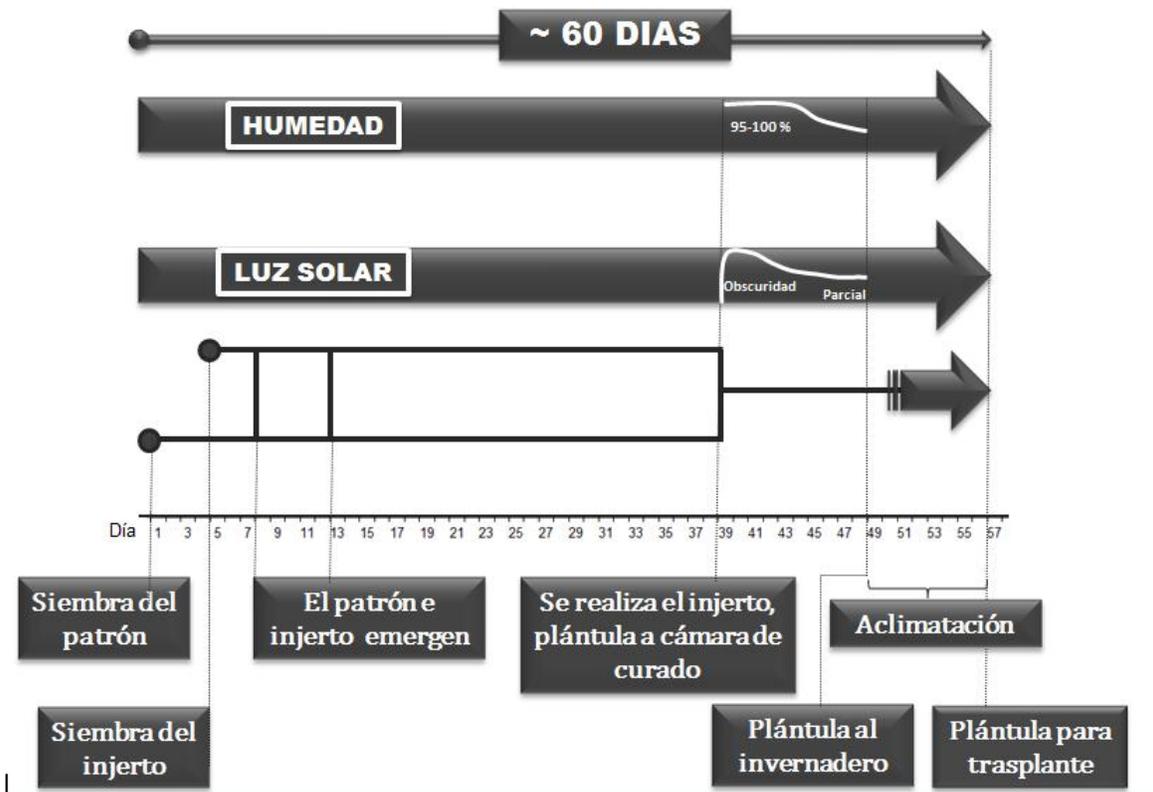


FIGURA 2. Esquema de sincronización del Criollo de Morelos 334 y el pimiento morrón (*Capsicum annuum* cv. Cannon).

Durante dos días después de la injertación (ddi); días 39 y 40, se mantuvo oscuridad total dentro de la cámara de curado, mientras que la humedad relativa estuvo arriba de 95% hasta el sexto ddi (día 44). Los primeros seis días ddi se observó 100% de plántulas turgentes en ambas combinaciones, ya que a pesar de que la radiación fotosintéticamente activa (RFA) se incrementó gradualmente al retirar la sombra artificial de la cámara de curado (plástico negro), la humedad relativa se conservó por arriba de 95 % y las plántulas prácticamente no transpiraron (Figura 3).

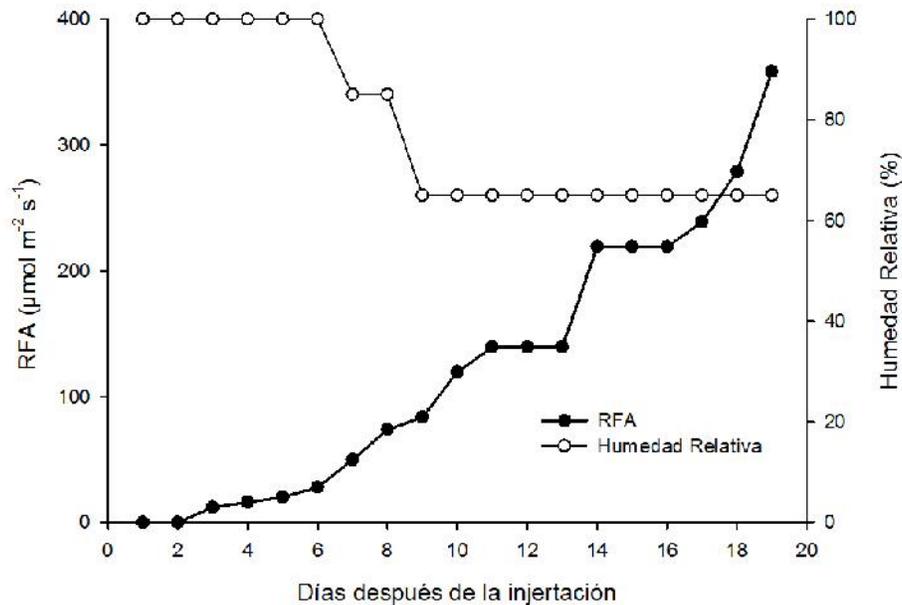


FIGURA 3. Correlación de las condiciones de aclimatación de las plantas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* cv. Cannon) injertadas sobre el CM-334. La temperatura del aire se mantuvo en 25 a 30°C.

En el séptimo día ddi y al disminuir la humedad relativa al 85%, se observó un ligero grado de marchitez en la mayoría de las plántulas. Para el día 11 ddi (día 49 dds); se sacaron las plántulas de la cámara de curado al invernadero bajo sombra ligera, solo 68% y 85% de la combinación Cannon sobre CM-334 y el homoinjerto de Cannon respectivamente se encontraban completamente turgentes. En esta etapa, 4% de las plántulas en ambas combinaciones presentaban un marchitamiento severo desde la base de la unión de injerto hasta el ápice, por lo que su probabilidad de supervivencia era nula. Sin embargo, el resto de las plántulas que no estaban completamente turgentes, presentaban algún grado de marchitamiento no severo y el primordio vegetativo en el ápice se encontraba turgente.

En el día 16 ddi (54), a las plántulas se les retiró la sombra ligera, exponiéndolas finalmente a las condiciones predominantes dentro del invernadero; es decir 239-358 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de RFA, 65 % de humedad relativa y de 25-30°C. En esta etapa, el porcentaje de las plántulas totalmente turgentes de la combinación Cannon

sobre CM-334 había aumentado a 78% y el de los homoinjertos de Cannon a 92%. Se mantuvieron estas condiciones por tres días más para considerar que la planta estaba lista para ser trasplantada. No se registró defoliación en las plántulas que sobrevivieron después del período de aclimatación.

2.5 Porcentaje de prendimiento

Se contabilizó el número de plantas turgentes a los 19 días después de haber realizado el injerto. Se realizaron cuatro repeticiones, con 25 plantas por repetición de cada combinación, Cannon injertado sobre CM-334 y el homoinjerto de Cannon. Se registró el porcentaje de prendimiento en cada repetición.

$$\text{Porcentaje de Prendimiento} = \frac{\text{No. de plántulas turgentes} * 100}{25}$$

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

Se realizaron tres muestreos para la evaluación de la anatomía de los tejidos vasculares, a los 10,15 y 20 días después de la injertación (ddi). Se muestrearon tres plántulas por cada conjunto; Cannon sobre Cannon y Cannon sobre CM-334. De cada uno, se obtuvo un tramo de 5 mm de largo de tallo de la unión del injerto a los ddi señalados para cada muestreo. Se fijaron 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) hasta el momento de procesar las muestras.

Una semana después de realizar el último muestreo, las muestras se metieron a un procesador automático de tejidos Leica® modelo 2000 (Alemania) para su deshidratación, aclaramiento e inclusión en parafina, según el cronograma del Cuadro 1. Cada muestra se montó en un bloque de parafina de acuerdo a Sass (1968) y se realizaron cortes transversales y longitudinales de 10 µm de espesor

en un micrótopo rotatorio Leica®, modelo 820 (Alemania). Cada corte se montó en portaobjetos utilizando el adhesivo de Haupt y formol a 10%. La tinción de tejidos se realizó con safranina (20 minutos) y fast green (10 minutos) de acuerdo con la metodología de Sass (1968). Finalmente, se colocó un cubreobjetos sobre los tejidos ya teñidos con ayuda de bálsamo de Canadá Meyer® (México).

CUADRO 1. Cronograma para la deshidratación, aclaramiento e inclusión en parafina de las muestras de tejidos colectados en un procesador de tejidos automático.

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

Los cortes histológicos de las uniones de injerto se observaron y fotografiaron en un microscopio equipado con una cámara digital.

2.7 Análisis Estadístico

Los valores medios de los porcentajes de prendimiento de cada combinación se separaron con la prueba de *t* con *P* 0.05 utilizando el programa computacional SigmaPlot (Systas Software Inc., 2008).

3. RESULTADOS

3.1 Porcentaje de germinación y sincronización de plántulas

El porcentaje de germinación de la variedad de pimiento morrón cv. Cannon y del genotipo Criollo de Morelos 334, es de 99 % y de 82 % respectivamente. Estos resultados no consideran plántulas que germinaron pero no se desarrollaron adecuadamente o que germinaron y las hojas cotiledonares no lograron romper la testa de la semilla para comenzar a fotosintetizar. Esto último sucedió principalmente en el genotipo CM-334.

El CM-334 requiere siete días después de haberse sembrado para germinar, mientras que Cannon requiere ocho. A pesar de que el CM-334 germina primero, su crecimiento tiende a ser más lento que el de la variedad de pimiento morrón Cannon, ya que tardan 39 y 35 días en alcanzar un diámetro de tallo de 1.8 mm respectivamente (Figura 4).

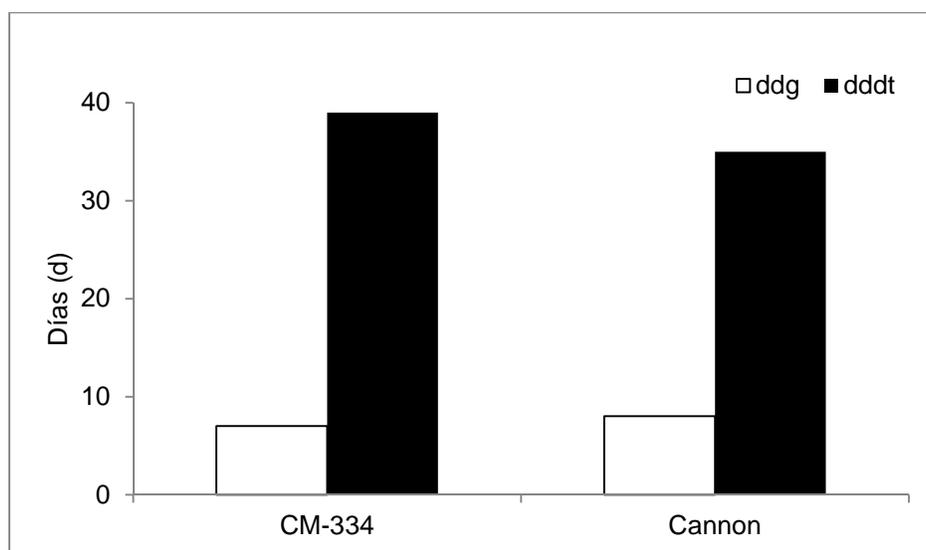


FIGURA 4. Días después de la germinación (ddg) y días después de que la planta alcanza un diámetro de tallo (dddt) de 1.8 mm de chile tipo serrano CM-334 y pimiento morrón (*Capsicum annuum* cv. Cannon).

3.2 Porcentaje de prendimiento

Después del período de aclimatación, 78% de las plántulas de la combinación Cannon sobre CM-334 sobrevivieron, mientras que el porcentaje de plantas prendidas del homoinjerto de Cannon fue de 92% ($P < 0.05$) (Figura 5).

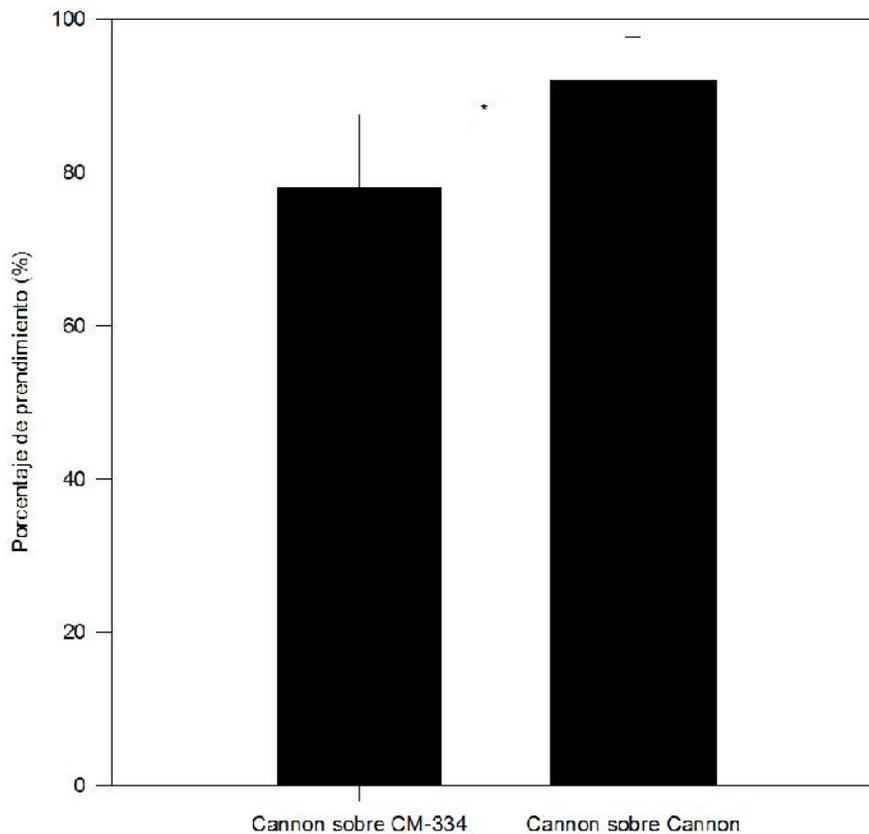


FIGURA 5. Porcentaje de prendimiento de la combinación de injerto Cannon sobre CM-334 y el homoinjerto de Cannon. Cada barra representa el promedio de cuatro repeticiones y la línea en cada barra representa la desviación estándar, * significativamente diferente (prueba de t , $P < 0.05$).

3.3 Anatomía de los tejidos vasculares de la plántula injertada

Las secciones transversales de la Figura 6 comparan la diferenciación morfológica de la combinación Cannon/CM-334 (Figura 6A, Figura 6C y Figura 6E) con los homoinjertos de Cannon (Figura 6B, Figura 6D, Figura 6F) en tres etapas de

desarrollo (10 ddi, 15 ddi y 20 ddi). Se observa el desarrollo progresivo de un anillo de haces vasculares, al mismo tiempo que la cicatriz de la herida va disminuyendo. En otra perspectiva, la Figura 7 permite observar el mismo proceso en secciones longitudinales.

La unión del injerto ya estaba desarrollada a los 10 ddi en ambas combinaciones (Figura 6A, Figura 6B, Figura 7A, Figura 7B), aunque ésta todavía es débil en la parte externa del tallo pues se observa que las células de parénquima del callo aún no llenan esta parte (Figura 7A). Las células con hipertrofia en la interface del injerto corresponden a la formación del callo y es visible desde los 10 ddi (Figura 7A y Figura 7B).

A los 15 ddi, se observó continuidad del sistema vascular en algunas zonas (Figura 7C, Figura 7D). La Figura 7C muestra la diferenciación de los haces vasculares que se curvan a conveniencia para buscar su contraparte en el otro tallo. El área con continuidad aumenta a los 20 ddi, la cicatriz del injerto se desvanece notoriamente al nivel del sistema vascular. La Figura 7F muestra un detalle de los elementos traqueales uniendo el conjunto portainjerto-injerto. La proliferación de células del callo evidencian el lugar donde se encontraba la cicatriz del injerto, indicado con flechas en la Figura 7F.

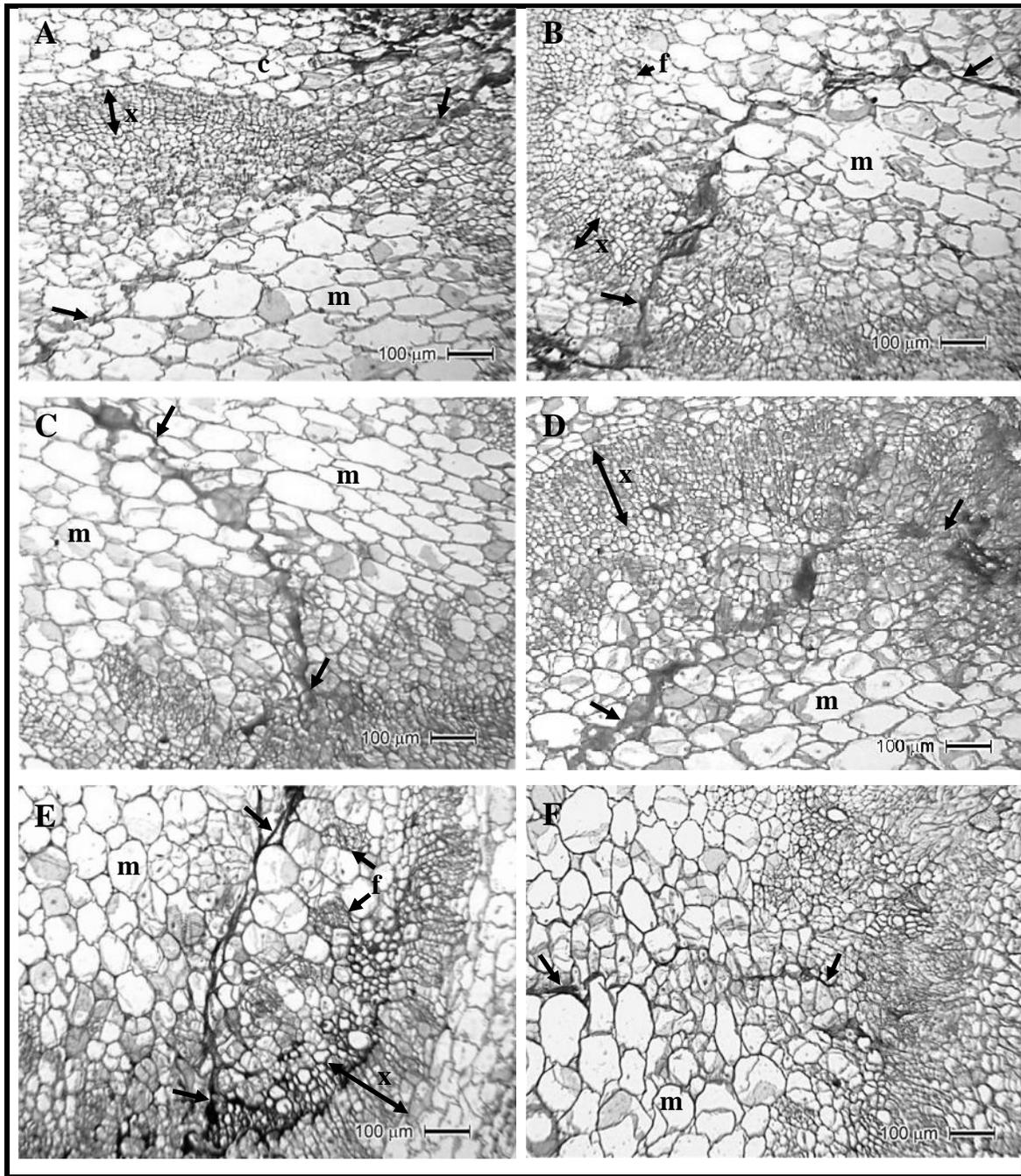


FIGURA 6. Secciones transversales de la unión del injerto en pimienta morrón Cannon/CM-334 (A, C, E) y pimienta Cannon/Cannon (B, D, F). A y B, a los 10 días después de injertación; C y D, a los 15 días después de injertación; E y F a los 20 días después de injertación. Las flechas indican la zona de unión de injerto, a menos que se indique una letra; x, xilema; f, floema; m, médula; c, corteza.

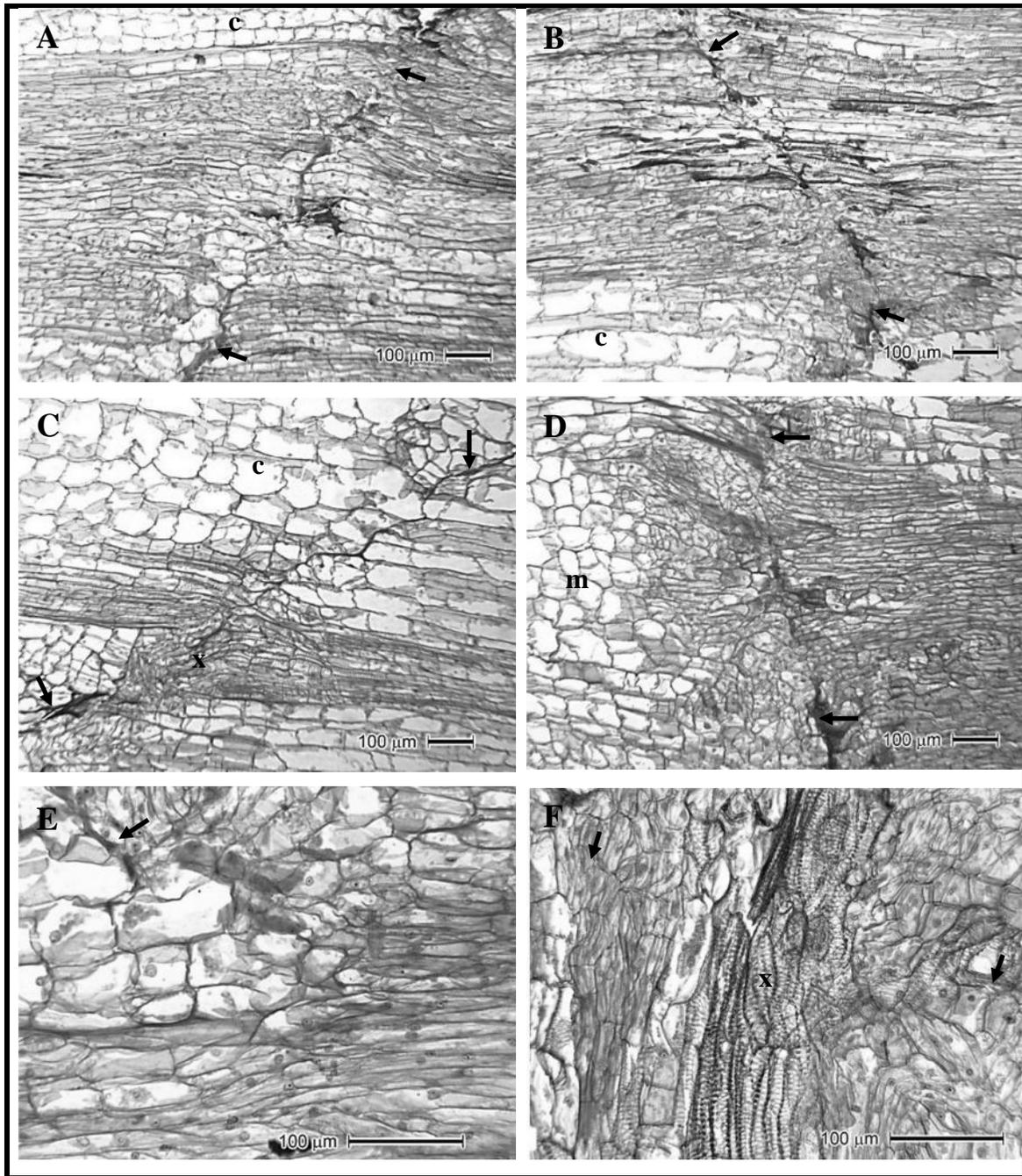


FIGURA 7. Secciones longitudinales de la unión del injerto en pimienta morrón Cannon/CM-334 (A, C, E) y pimienta Cannon/Cannon (B, D, F). A y B, a los 10 días después de injertación; C y D, a los 15 días después de injertación; E y F a los 20 días después de injertación. Las flechas indican la zona de unión de injerto; x, xilema; c, corteza; m, médula.

4. DISCUSIÓN

El genotipo CM-334 utilizado como portainjerto de pimiento morrón es una colecta de un chile criollo tipo serrano, por lo que presenta mucha heterogeneidad a nivel fenotípico y probablemente genotípico. En comparación con la variedad de pimiento morrón Cannon, CM-334 presentó un porcentaje de germinación menor que puede atribuirse a la calidad de la semilla utilizada.

Por otra parte, el porcentaje de prendimiento fue menor para la combinación Cannon sobre CM-334 comparada con homoinjertos de Cannon. Aún cuando se mantuvo una alta humedad relativa durante seis días para limitar la transpiración de las plántulas, 22 % de la combinación Cannon sobre CM-334 no pudo superar el estrés ocasionado por la herida que se realizó en los injertos cuando se redujo la humedad relativa a 65 %. De la misma forma, 8 % de los homoinjertos de Cannon, no sobrevivieron a esta condición. El estrés por heridas ocasiona que las células de la planta generen oxígeno activo, lo que resulta en varios desordenes fisiológicos (Berlett y Stadtman, 1997). En plantas de tomate, la concentración de oxígeno activo se incrementa después de la injertación y la actividad de enzimas antioxidantes como la peroxidasa, ácido ascórbico y la catalasa aumentan para eliminar el oxígeno activo (Fernández-García *et al.* 2004). Johkan *et al.* (2008), observaron que la aplicación de ácido ascórbico vía foliar es una forma efectiva para proteger a las plantas de pimiento del estrés generado por el corte en plantas injertadas promoviendo la formación de callo y aumentando la tasa de sobrevivencia. El ácido ascórbico actúa como un antioxidante a través de una reacción catalítica con la ascorbato peroxidasa (Shigeoka *et al.*, 2002). En pimiento morrón, es probable que la actividad antioxidante en la interface del injerto no sea suficiente para eliminar el oxígeno activo, lo que dificultó su prendimiento en este estudio.

La edad de la plántula también es un factor importante en el prendimiento. Johkan *et al.* (2008), encontraron que con tratamiento de ácido ascórbico el porcentaje de

prendimiento de homoinjertos de pimiento morrón con plántula joven (34 días) alcanzaba 100%, mientras que con plántula vieja (58 días) disminuía a 89%. Además, ellos mismos señalaron que en plántulas viejas ocurre defoliación y un bajo porcentaje de sobrevivencia debido a una baja tasa de formación del callo en la interface del injerto, lo que resulta en valores de resistencia estomática y potencial hídrico más bajos en comparación con plántulas jóvenes. En el presente estudio, se utilizó plántula joven de pimiento morrón (35 días de edad); sin embargo, la edad de la plántula del portainjerto fue cuatro días mayor que la de pimiento morrón, porque es cuando ocurre la sincronización de sus diámetros para poder ser injertadas. Aunque la edad del portainjerto pudo haber influenciado el porcentaje de prendimiento, no se registró defoliación en las plantas prendidas.

Gisbert *et al.* (2010) obtuvieron porcentajes de prendimiento de 95-98 % al injertar pimientos tipo Lamuyo y blocky sobre portainjertos híbridos descendientes del CM-334. En este experimento, la semilla del CM-334 provenía de una colecta y no de una línea. Es probable que la heterogeneidad del material haya influido en un porcentaje de prendimiento más bajo, ya que plantas del mismo material pero con algunas diferencias genotípicas podrían tener una capacidad diferente para desarrollar una unión fuerte. También puede ocurrir una incompatibilidad fisiológica como consecuencia de una falta de reconocimiento celular, presencia de reguladores de crecimiento o toxinas de incompatibilidad (Andrews y Serrano-Márquez, 1993).

En el prendimiento de plántulas de ambas combinaciones, pueden reconocerse tres eventos principales. En primer lugar ocurre la cohesión del portainjerto y el injerto que puede explicarse como resultado de la deposición y la subsecuente polimerización de los materiales de la pared celular en respuesta a la herida que se hace cuando se injerta la plántula (Moore y Walker, 1981). Esta etapa ocurre antes de los diez ddi, puesto que la unión del injerto ya está desarrollada en esta etapa, aunque todavía es débil en la parte más externa de los tallos. No se encontró evidencia de que la médula de los tallos se vea afectada por el proceso

de injertación a diferencia de lo que ocurre en plántula de tomate injertada. Fernández-García *et al.* (2004) reportaron que en plántulas de tomate injertadas, las células parenquimatosas de la médula central se mueren formando una cavidad cubierta por una capa necrótica, la cual es visible aún a los 15 ddi; sin embargo, el sistema vascular permanece inalterado permitiendo que las plántulas sobrevivan.

En segundo lugar ocurre una proliferación de las células del callo la cual es visible a los 10 ddi cuando éstas empiezan a crecer en tamaño (hipertrofia) y a dividirse. La formación del callo se promueve a partir de las células vivas en la interface del injerto a excepción de las células de la médula. Como se mencionó, a pesar de que las células de parénquima de la médula no se ven afectadas por la herida al realizar los injertos, éstas no parecen contribuir a la formación del callo. Las células de parénquima del callo se diferenciarán para formar los haces vasculares que permitirán el flujo de agua entre el patrón y el injerto (Moore, 1984). Las plantas de pimiento morrón forman menos callo que las de tomate o berenjena (Johkan *et al.*, 2008) y es probable que este proceso inicie más tarde en pimiento morrón en comparación con otras solanáceas.

La diferenciación del sistema vascular, es el último evento que ocurre en la formación de un injerto compatible (Moore, 1984) para lo cual es necesaria la diferenciación del xilema y la lignificación (Fernández-García *et al.*, 2004). Las conexiones del xilema pueden diferenciarse al primer ddi en zonas muy pequeñas (1%) (Johkan *et al.*, 2009) pero para que la unión del injerto se considere exitosa se necesitan que varias conexiones de xilema y floema atraviesen la interface del injerto. 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. Esta situación, puede hacer el proceso de

prendimiento tardado aún en combinaciones compatibles, lo que denota la importancia de contar con diámetros de tallos similares.

5. CONCLUSIONES

El pimiento morrón cv. Cannon tiene un buen nivel de compatibilidad anatómica para ser injertado sobre el CM-334. Durante el desarrollo estructural de la unión del injerto se identificaron tres etapas principales. En primer lugar ocurrió la cohesión del portainjerto y el injerto la cual tuvo lugar durante los primeros días después de la injertación (ddi). Posteriormente ocurrió la formación del callo la cual fue visible desde los 10 ddi. La diferenciación del sistema vascular es el último evento de una unión de injerto exitosa, la cual se pudo observar a manera de continuidad del sistema vascular a los 15 ddi avanzando progresivamente hasta los 20 ddi.

6. LITERATURA CITADA

ALCANTARA, T. P.; BOSLAND, P. W. 1994. An inexpensive disease screening technique for foliar blight of chile pepper seedlings. HortScience 29: 1182-1183.

ANDREWS, P. K.; SERRANO-MÁRQUEZ, C. 1993. Graft incompatibility. Horticultural Reviews 15: 183-232.

BERLETT, B. S.; STADTMAN, E. R. 1997. Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress. Journal of Biological Chemistry 272: 20313-20316.

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

ÉRARD, P.; ODET, J. 2009. Les points sur les méthodes alternatives: Le greffage du poivron. Ctfil No. 3. France. 5 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.

FOSTER, J. M.; HAUSBECK, M. K. 2010. Resistance of pepper to *Phytophthora* crown, root, and fruit rot is affected by isolate virulence. *Plant Disease* 94:24-30.

GISBERT, C.; SANCHEZ-TORRES, P.; RAIGON, M.; NUEZ, F. 2010. *Phytophthora capsici* resistance evaluation in pepper hybrids: Agronomic performance and fruit quality of pepper grafted plants. *International Journal of Food, Agriculture and Environment* 8(1): 116-121.

JOHKAN, M.; MITUKURI, K.; YAMAZAKI, S.; MORI, G.; ODA, M. 2009. Causes of defoliation and low survival rate of grafted sweet pepper plants. *Scientia Horticulturae* 119: 103-107.

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

KAWAGUCHI, M.; TAJI, A., BACKHOUSE, D.; ODA, M. 2008. Anatomy and physiology of graft incompatibility in solanaceous plants. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 83(5): 581-588.

LEE, J.M. 1994. Cultivation of grafted vegetables. I. Current status, grafting methods and benefits. *HortScience* 29: 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.

MOORE, R. 1984. A model for graft compatibility-incompatibility in higher plants. *American Journal of Botany* 71: 752-758.

MOORE, R.; WALKER, D. B. 1981. Studies of vegetative compatibility-incompatibility in higher plants. 1. A structural study on incompatible autograft in *Sedum telephoides* (Crassulaceae). 2. A structural study of incompatible heterograft between *Sedum telephoides* (Crassulaceae) and *Solanum pennellii* (Solanaceae). *American Journal of Botany* 68: 820-832.

OELKE, L. M.; BOSLAND, P. W.; STEINER, R. 2003. Differentiation of race specific resistance to *Phytophthora* root rot and foliar blight in *Capsicum annuum*. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 128: 213-218.

OGATA, T.; KABASHIMA, Y.; SHIOZAKI, S.; HORIUCHI, S. 2005. Regeneration of the vascular bundle at the graft interface in auto- and heterografts with juvenile nucellar seedlings of satsuma mandarin, yuzu and trifoliate orange. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*. 74: 214-220.

ORTEGA-GIL, R.; ESPAÑOL, C. P.; ZUECO, J.C. 1991. Genetics of resistance to *Phytophthora capsici* in the pepper line 'SCM-334'. *Plant Breeding* 107: 50-55.

PALADA, M. C.; WU, D. L. 2008. Grafting sweet peppers for production in the hot-wet season. AVRDC Publication No: 09-722-e. 8 p.

PEGARD, A.; BRIZZARD, G.; FAZARI, A.; SOUCANE, O.; ABAD, P.; DJIAN-CAPORALINO, C. 2005. Histological characterization of resistance to different

root-knot nematode species related to phenolic accumulation in *Capsicum annum*. *Phytopathology* 95: 158-165.

QUIRIN, E. A.; OGUNDIWIN, E. A.; PRINCE, J. P.; MAZOUREK, M.; BRIGGS, M. O.; CHLANDA, T. S.; KIM, K. T.; FALISE, M.; KANG, B. C.; JAHN, M. M. 2005. Development of sequence characterized amplified region (SCAR) primers for the detection of *Phyto. 5.2*, a major QTL for resistance to *Phytophthora capsici* Leon. in pepper. *Theoretical and Applied Genetics* 110: 605-612.

SANOGO, S. 2004. Response of chile pepper to *Phytophthora capsici* in relation to soil salinity. *Plant Disease* 88: 205-209.

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

SHIGEOKA, S., ISHIKAWA, T.; TAMOI, M.; MIYAGAWA, Y.; TAKEDA, T.; YABUTA, Y.; YOSHIMURA, K. 2002. Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. *Journal of Experimental Botany* 53: 1305-1319.

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 annum* L. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 130(1): 75-78.

SY, O.; STEINER, R.; BOSLAND, P. W. 2008. Recombinant inbred line differential identifies race-specific resistance to *Phytophthora* root rot in *Capsicum annum*. *Phytopathology* 98: 867-870.

SYSTAS SOFTWARE INC. 2008. *SigmaPlot 11 for windows version 11.0. Statistics for User's Guide*. Chicago, Systat Software Inc., 578 p.

TAI, S. F.; HUANG, H.Y.; LIN, C. H.; TSENG, M. J.; CHANG, W. N. 2004. Studies on graft compatibility as pepper scions grafted onto eggplant rootstocks. Research bulletin of KDARES 15(2): 24.

THABUIS, A.; PALLOIX, A.; PFLIEGER, S.; DAUBEZE, A. M.; CARANTA, C.; LEFEBVRE, V. 2003. Comparative mapping of *Phytophthora* resistance loci in pepper germplasm: Evidence for conserved resistance loci across *Solanaceae* and for a large genetic diversity. Theoretical and Applied Genetics 106: 1473-1485.

TORII, T.; KAWASAKI, M.; OKAMOTO, T.; KITANI, O. 1992. Evaluation of graft-take using thermal camera. Acta Horticulturae 319: 631-634.

TRUJILLO-VIRAMONTES, F.; ZAVALETA-MEJÍA, E.; ROJAS-MARTÍNEZ, R. I.; LARA, J. 2005. Tiempo de inoculación y nivel de inóculo, 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: 14-18.

YAZAWA, S.; KENMI, T.; UEMURA, N.; ADACHI, K.; TAKASHIMA, S. 1980. Use of interspecific hybrids of *Capsicum* as rootstock for green pepper growing. Science Report of Kyoto Prefecture University Agriculture. 32: 25-29

CAPITULO II. DESEMPEÑO AGRONÓMICO DE PIMIENTO MORRÓN INJERTADO SOBRE CRIOLLO DE MORELOS 334 PARA EL MANEJO DE *Phytophthora capsici* L.

RESUMEN

Se evaluó el efecto del Criollo de Morelos 334 (CM-334) como portainjerto de pimiento morrón (*Capsicum annuum* cv. Cannon) al comparar las variables morfológicas y de rendimiento con plantas de pimiento morrón sin injertar. También, se evaluó el efecto de *Phytophthora capsici* en plantas injertadas comparadas con plantas injertadas sin el estrés del patógeno. El uso del CM-334 como portainjerto de pimiento morrón disminuyó el vigor de la planta. Los valores promedio de las variables morfológicas y de rendimiento fueron menores en plantas injertadas en comparación con plantas sin injertar ($P < 0.05$), con una disminución del rendimiento de 40 %. El pimiento morrón cv. Cannon fue susceptible a la cepa 6143 altamente virulenta de *P. capsici*. Sin embargo, el CM-334 usado como portainjerto fue capaz de otorgarle resistencia al patógeno ya que las plantas injertadas fueron consistentemente resistentes a lo largo del ciclo de cultivo y su crecimiento y rendimiento no difirió con respecto a plantas injertadas que no interactúan con el patógeno ($P < 0.05$). Estas evidencias sugieren que la combinación Cannon/CM-334 es una alternativa viable con condiciones de alta presión del patógeno, en sistemas de producción donde las posibilidades de rápida diseminación de la enfermedad son altas una vez que se presenten las primeras plantas enfermas y/o el uso de fungicidas esté restringido.

PALABRAS CLAVE: *Capsicum annuum* var. *annuum*, marchitez del chile, resistencia genética, portainjerto, injerto de hortalizas

AGRONOMIC PERFORMANCE OF BELL PEPPER (*Capsicum annuum* L.) GRAFTED ONTO CRIOLLO DE MORELOS 334 FOR THE MANAGEMENT OF *Phytophthora capsici* L.

ABSTRACT

In this work, the effect of the Mexican landrace Criollo de Morelos 334 (CM-334) as rootstock of bell pepper (*Capsicum annuum* cv. Cannon) was evaluated. Morphological and yield parameters of grafted plants were compared to those of ungrafted bell pepper plants. Also, the effect of *Phytophthora capsici* in grafted plants compared to grafted plants in the absence of the pathogen was evaluated. CM-334 as bell pepper rootstock reduced plant vigor. Average values of morphological and yield parameters were lower in grafted plants than in ungrafted plants ($P < 0.05$), with a yield reduction of 40 %. Bell pepper cv. Cannon is susceptible to the highly virulent *P. capsici* strain 6143. However, when used as bell pepper rootstock, CM-334 was able to give the grafts resistance to the pathogen since grafted plants were consistently resistant throughout the crop cycle and no differences were observed for growth and yield parameters when compared to those of grafted plants in interaction with the pathogen ($P < 0.05$). This evidence suggests that Cannon/CM-334 combination is a feasible alternative only under high pressure pathogen conditions, cropping systems where there are high chances of rapid spread of the disease once the first diseased plants are detected, and/or fungicide use is restrictive.

KEYWORDS: *Capsicum annuum* var. *annuum*, Phytophthora blight, genetic resistance, rootstock, vegetable grafting

1. INTRODUCCIÓN

Los artrópodos y patógenos son factores limitantes en la producción de chiles (Sarath-Babu *et al.*, 2011). Sin embargo, *Phytophthora capsici*; uno de los organismos causantes de la marchitez del chile, es también uno de los patógenos más devastadores para el cultivo en México, su incidencia se reporta en casi la totalidad de los estados productores de chile (García *et al.*, 2000; Guijón-López y González-González, 2001) y puede causar pérdidas de hasta el 100 % cuando las condiciones ambientales son favorables y no se realiza prevención (González-Pérez *et al.*, 2004). En México, se ha reportado que *P. capsici* puede actuar en complejo con *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, *F. equiseti*, *F. verticilloides*, *F. solani* y *Phytium* spp. (Velásquez-Valle *et al.*, 2001, Palomo-Rodríguez *et al.*, 2003; González-Pérez *et al.*, 2004); sin embargo, *P. capsici* es particularmente importante porque la planta atacada se vuelve vulnerable a ser invadida por otros patógenos (Erwin y Ribeiro, 1996).

Phytophthora capsici tiene el potencial para desarrollar una enfermedad policíclica rápida a partir de una cantidad de inóculo limitada (Ristaino, 1991), su crecimiento óptimo es a 25-28°C de temperatura y humedad relativa arriba del 60% (Hausbeck y Lamour, 2004). Es capaz de atacar a la planta en cualquier etapa de desarrollo y todas sus partes incluyendo raíces, hojas y frutos (Candole *et al.*, 2010) induciendo distintos síndromes, tales como ahogamiento de plántulas, pudrición radical, pudrición de la corona del tallo, pudrición de fruto y tizones foliares (Ristaino y Johnston, 1999). Este patógeno se caracteriza por tener esporangios papilados, con oogonios globosos y anteridios anfiginos, oosporas que generalmente se forman cuando los tipos de compatibilidad A1 y A2 se aparean (Waterhouse, 1970); es decir, se trata de una especie heterotálica. Morfológicamente, el talo está compuesto de micelio cenocítico, el cual puede dar origen a esporangios de forma alimonada sostenidos en pedicelos caducos (Alconero y Santiago, 1972). Cuando los esporangios se colocan en agua libre, se diferencian para producir de 20 a 40 zoosporas bi-flageladas con capacidad para

nadar (Bernhardt y Grogan, 1982). Las zoosporas tienen un geotropismo negativo y quimiotácticamente siguen un gradiente de nutrientes mientras nadan (Erwin y Ribeiro, 1996) y cuando entran en contacto con la superficie de la planta se enquistan y germinan para generar tubos germinativos (Hickman, 1970). La penetración en la superficie de las hojas ocurre directamente a través de aberturas naturales como los estomas (Katsura y Miyazaki, 1960). Las oosporas son las estructuras de supervivencia a largo plazo fuera del tejido del hospedante, las cuales tienen una pared gruesa, multicapa que contiene β -glucano y celulosa (Erwin y Ribeiro, 1996). Las oosporas requieren un periodo de dormancia de al menos un mes antes de germinar directamente o formar esporangios (Satour y Butler, 1968; Erwin y Ribeiro, 1996) y constituyen la principal fuente de inóculo en campo (Hausbeck y Lamour, 2004).

El manejo de la enfermedad dentro del manejo integrado del cultivo incluye el uso de diversas estrategias que involucran fungicidas, inductores de resistencia y control biológico, métodos culturales como el uso de acolchados, la solarización, rotación de cultivos, manejo del riego y resistencia genética, cada uno con sus propias limitaciones. Aunque la resistencia genética se considera de gran utilidad por varios autores, ninguno de los cultivares de pimiento morrón con algún nivel de tolerancia a *P. capsici*, ofrece resistencia a un amplio rango de aislados de este patógeno (Glosier *et al.*, 2008; Oelke *et al.*, 2003). Por otra parte, los agricultores se muestran reacios a utilizar cultivares resistentes o tolerantes debido a la percepción de que incrementan la incidencia del plateado o “silvering” (separación de la cutícula del fruto de la epidermis) (Wyenandt y Kline, 2006) y a la presencia de frutos deformes (Ristaino, 1990) no comercializables.

En este contexto, nuevas técnicas para el manejo de *P. capsici* en pimiento morrón están surgiendo como es el caso del uso de injertos resistentes al patógeno. 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). 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 patrón-injerto debe ser cuidadosamente escogida para una calidad de fruto óptima (Davis *et al.*, 2008).

Dentro del germoplasma local, el Criollo de Morelos 334 (CM-334) tiene potencial para su uso como portainjerto de pimiento morrón, ya que ambos tienen un buen nivel de compatibilidad de injerto y el CM-334 tiene un nivel alto de resistencia contra todas las razas conocidas de *P. capsici* (Oelke *et al.*, 2003; Sy *et al.*, 2008; Foster y Hausbeck, 2010). En estudios previos, seis híbridos descendientes del CM-334 han sido utilizados como portainjertos de pimiento morrón mostrando buenos niveles comerciales del control de la enfermedad e inclusive algunas combinaciones de injertos reportan incrementos en el rendimiento con respecto a plantas no injertadas u otras combinaciones de injerto (Santos y Goto, 2004; Morra y Billoto, 2006; Gisbert *et al.*, 2010), lo cual resalta la importancia de la interacción patrón-injerto. Un programa de manejo de la enfermedad basado en el uso de injertos, debe ser complementado con estudios que evalúen el desempeño agronómico de la combinación portainjerto-injerto para obtener rendimientos y calidad de fruto óptimos. Además, la presencia del patógeno y la incidencia de la enfermedad son impactadas por factores geográficos, ecológicos, ambientales y antropogénicos que pueden afectar la selección de la combinación portainjerto-injerto (Louws *et al.*, 2010).

En México, el uso del CM-334 como portainjerto se ha limitado a la producción experimental de chile ancho (García-Rodríguez *et al.*, 2010). La combinación de injerto pimiento morrón/CM-334 podría ser capaz de mantener rendimientos adecuados aún con la presencia de *Phytophthora capsici* en el sustrato comparados con plantas no injertadas en ausencia del patógeno. En este trabajo, se reportan los resultados que se obtuvieron al evaluar la combinación de pimiento morrón cv. Cannon injertado sobre CM-334. De esta forma; en un primer experimento, se evaluó el efecto del CM-334 como portainjerto de pimiento morrón en las variables morfológicas y de producción, comparando plantas sin injertar e injertadas. En un segundo experimento, se evaluó el efecto de *Phytophthora capsici* en las variables morfológicas y de producción, comparando plantas injertadas bajo el estrés del patógeno con plantas injertadas en ausencia del patógeno.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Localización y Condiciones del Sitio Experimental

Los experimentos se realizaron simultáneamente en dos módulos de los invernaderos del Posgrado en Horticultura de la Universidad Autónoma Chapingo, en Chapingo, estado de México, localizado a 19° 29' LN y 98°53' LO con una altitud de 2240 msnm. Las condiciones de temperatura, luminosidad y humedad relativa, fueron monitoreadas con un data logger HOBO ® modelo H8 (EUA). Al interior del invernadero se registró una temperatura promedio de 24.7 °C durante el período con mayor intensidad luminosa. Las condiciones de luminosidad promedio fueron de 2 020 lm ft⁻² (402 μmol m⁻² s⁻¹ de radiación fotosintéticamente activa) y la humedad relativa promedio durante el día fue de 55.6 %.

2.2 Material Vegetal

Se utilizó planta de pimiento morrón cv. Cannon (Zeraim Gedera ®, Israel) sin injertar y planta de pimiento morrón cv. Cannon injertada en el CM-334 por el método de injerto de empalme con grapa de plástico. El genotipo CM-334 es

altamente resistente a *P. capsici* y fue utilizado como portainjerto de pimiento morrón cv. Cannon, el cual es un tipo blocky con maduración temprana en rojo, con frutos de 170-250 g de peso y 85-100 mm de diámetro. Tiene adaptabilidad a diversas zonas de producción para casa sombra o invernadero en primavera, otoño e invierno manejado bajo sistema de poda holandés o español. No es declarado con resistencia a *P. capsici*, pero es resistente a TM2; es decir, al *Tobacco mosaic virus* (gen L3).

2.3 Establecimiento y Manejo del Cultivo en Invernadero

2.3.1 Manejo agronómico

Previo a establecer el ensayo, se desinfestaron las paredes y pisos del invernadero con una aplicación de sanitizante a base de cuaternario de amonio y sulfato de cobre Anibac Plus® (Ultraquímica Agrícola, México) (20 mL·L⁻¹ de agua). El sustrato arena de tezontle fue lavado con agua corriente y una vez en las macetas también se realizó una aplicación del mismo sanitizante (80 mL·L⁻¹ de agua). La parte superior de la maceta fue cubierta con vermicomposta la cual fue desinfestada de la misma manera.

El trasplante se efectuó el 9 de agosto de 2012 a los 60 días después de la siembra para el caso de patrón de injerto y 56 días después de la siembra para el caso de la variedad que se injerto sobre el patrón. Se utilizó un sistema hidropónico abierto que consistió de macetas de polietileno negro de 35 x 35 cm rellenas con arena de tezontle rojo nuevo con la mayoría de sus partículas de 1-3 mm de diámetro y vermicomposta en la parte superior de la maceta en una proporción 3:1 (v:v). Las plantas fueron colocadas en hileras a 1 m de separación entre hilera e hilera y a 0.4 m de separación entre planta y planta, dando una densidad de 2.5 plantas m⁻².

A los 15 después del trasplante (ddt), se realizó una aplicación en drench a la base del tallo de las plántulas de un biogenerador radicular Raix® (Química Sagal, México) (2 mL·L⁻¹ de agua) para promover un mayor desarrollo del sistema

radicular. Todas las plantas se cultivaron bajo el sistema de manejo Español. Los tallos y las ramas laterales no se podaron, permitiendo que la planta desarrollara un dosel con dos o tres tallos principales con ramas laterales en la planta madura. A la tercera semana después del trasplante, se eliminó la flor de la primera bifurcación de cada planta para permitir que tuviera un adecuado desarrollo vegetativo antes del cuajado de frutos. Después del primer corte de frutos se podaron las hojas por debajo de la primera bifurcación. El dosel de las plantas se sostuvo verticalmente en ambos lados con la ayuda de rafia de tutoreo atada a postes colocados en los extremos de la línea de plantas.

2.3.2 Riego y nutrición

Se utilizó una cintilla de goteo; con emisores cada 40 cm, por hilera de planta para proporcionar los riegos con una solución nutritiva estándar para *Capsicum* que contenía los siguientes elementos y concentraciones ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$): N=215, P=60, K=202, Ca=235, Mg=60, S=217, Fe=3, B=0.6, Mn=0.5, Cu= 0.1 y Zn= 0.1. La conductividad eléctrica de la solución oscilaba entre 1.4 - 2.5 dS/m y el pH oscilaba entre 5.8-6.5. Durante los primeros 30 días después de haber realizado el trasplante, la solución fue concentrada a 50 % y a 100 % a partir del segundo mes y hasta el final del cultivo. Ante la persistencia de días nublados y fríos, la solución nutritiva no se modificó. En su lugar, se realizaron aplicaciones de fertilizante foliar Bayfolan ® (Bayer CropScience, México) ($5 \text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$). Además, la nutrición se suplementó con cuatro aplicaciones foliares de una mezcla de fertilizantes quelatados con EDTA Tradecorp ® AZ (Nevada Chemicals, México) ($2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de agua) para prevenir deficiencias micronutrientales.

2.3.3 Plagas

Bajo condiciones de alta humedad relativa (arriba de 75%), se realizaron aplicaciones preventivas contra tizones y bacterias con Oxiclورو de Cobre Cupravit ® (Bayer CropScience, México) ($2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de agua). Durante el ciclo del cultivo se identificó la incidencia de *Leveillula taurica*, para lo cual se realizaron

dos aplicaciones curativas con azoxystrobin Amistar® (Syngenta Agro, México) ($1.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de agua) a intervalo de diez días. Además, ante la presencia de tizones en flores y pedúnculos florales causados por *Botrytis cinerea*, también se realizaron dos aplicaciones de cyprodinil+fludioxonil Switch® 62.5 WG (Syngenta Agro, México) ($1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de agua) a intervalo de diez días.

La densidad de poblaciones de *Bemisia tabaci* y *Bactericera cockerelli* se combatió con trampas amarillas impregnadas con pegamento de uso agrícola Stick Bug® (AlternaAgro, México) y dos aplicaciones de flonicamid Beleaf® (FMC Agroquímica, México) ($1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de agua) a intervalo de siete días. También se realizaron dos aplicaciones de abamectina Agrimec® (Syngenta Agro, México) ($1 \text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$ de agua) a intervalo de siete días para reducir la presencia de *Tetranychus* spp. y *Bactericera cockerelli*.

2.4 Diseño Experimental y Tratamientos

2.4.1 Experimento uno

Para evaluar el efecto del CM-334 como portainjerto de pimiento morrón en las variables morfológicas y de rendimiento, se compararon plantas sin injertar e injertadas utilizando un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones y dos tratamientos. La unidad experimental consistió de 10 plantas, con un total de 40 plantas por tratamiento. La descripción de los tratamientos que se aplicaron es como sigue:

T₁= Plantas de pimiento morrón sin injertar

T₂= Plantas de pimiento morrón injertadas sobre el CM-334

2.4.2 Experimento dos

En el segundo experimento se evaluó el efecto de *Phytophthora capsici* en las variables morfológicas y de rendimiento, comparando plantas injertadas bajo el estrés del patógeno con plantas injertadas en ausencia del patógeno, para el cual se utilizó un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones y dos

tratamientos más un testigo. La unidad experimental consistió de 10 plantas, con un total de 40 plantas por tratamiento. La descripción de los tratamientos que se aplicaron es como sigue:

T₀= Plantas de pimiento morrón sin injertar e inoculadas con *P. capsici* que funcionan como el testigo del experimento.

T₁= Plantas de pimiento morrón injertadas sobre el CM-334 e inoculadas con *P. capsici*.

T₂= Plantas de pimiento morrón injertadas sobre el CM-334 y sin inocular con *P. capsici*.

En este experimento también se evaluó el progreso de la enfermedad en las plantas afectadas y se confirmó la presencia de *P. capsici* en las plantas enfermas.

2.4.2.1 Obtención del aislamiento de *Phytophthora capsici* y preparación del inóculo

Para realizar las inoculaciones, se utilizó el aislamiento 6143 de *Phytophthora capsici* altamente virulento, el cual proviene de la Universidad Estatal de Nuevo México en los Estados Unidos. La cepa se sembró en cajas de Petri de 9 cm de diámetro con medio jugo V8®-agar y se mantuvo a temperatura ambiente durante cuatro días periodo en el cual la cepa cubrió toda la caja (Figura 1A). El inóculo a emplear fue zoosporas producidas según el siguiente procedimiento. En cajas de Petri de 9 cm de diámetro con medio de cultivo jugo V8® se colocaron cuatro hojas de chile, las cuales previamente se esterilizaron hirviéndolas en agua destilada. Posteriormente, de los aislados cultivados se extrajeron rodajas de 1 cm de diámetro del micelio de *P. capsici* y se colocaron en las cajas con las hojas de chile. Se agregaron 20 mL de agua destilada y se colocaron bajo luz blanca a temperatura ambiente durante cinco a siete días (Figura 1B). A partir del quinto día, se monitorearon las cajas hasta observar la formación de esporangios (Figura 1C), después las cajas se sometieron a 4°C para inducir la liberación de zoosporas (Figura 1D). A los 45 minutos, se monitorearon las cajas hasta observar

las zoosporas al microscopio compuesto y cuando esto sucedió, se colectó el medio acuoso de las cajas de Petri en un vaso de precipitados y se contaron el número de zoosporas utilizando un hematocitometro Neubauer-imp® (Marienfeld, Alemania). La concentración del inóculo se ajustó a 2 000 zoosporas/mL o 50 000 zoosporas/mL según se requirió.

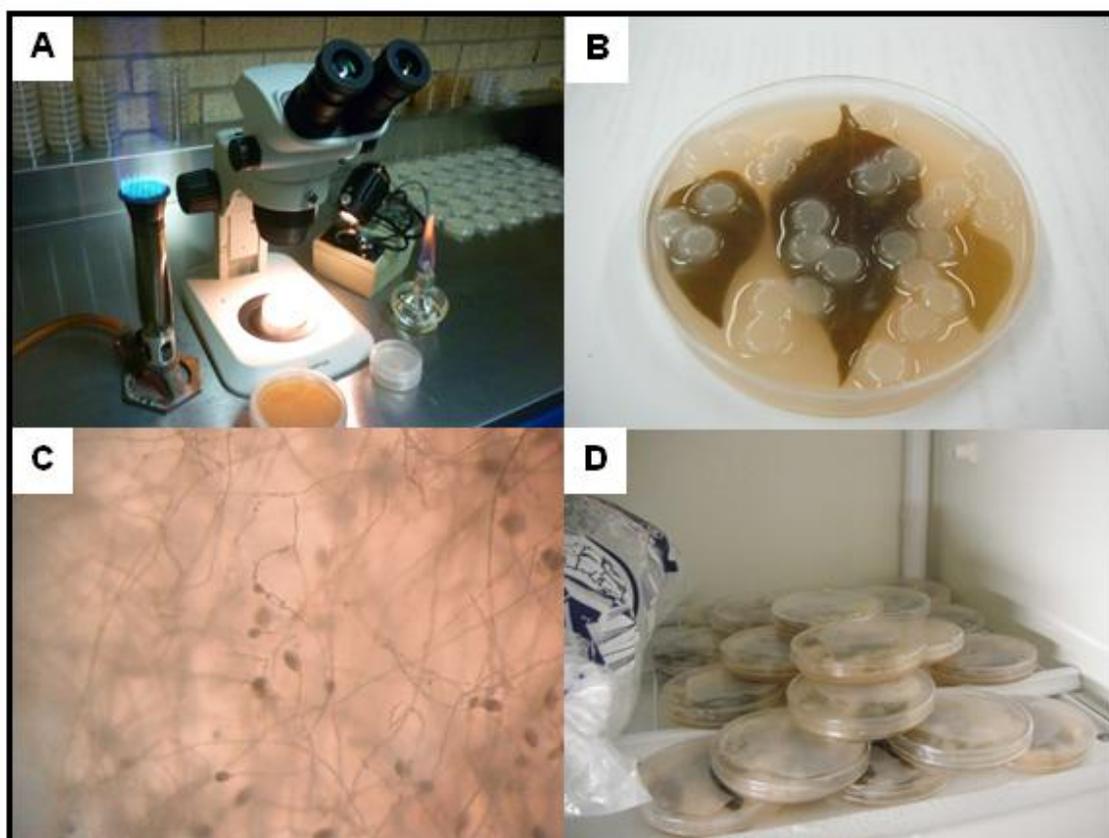


FIGURA 1. Producción del inóculo de *Phytophthora capsici* en laboratorio. Siembra de la cepa en medio V8® (A), inducción de esporangios (B), esporangios formados (C) e inducción de liberación de zoosporas (D).

2.4.2.2 Inoculación con *Phytophthora capsici*

A lo largo del experimento se realizaron dos inoculaciones a las plantas con los tratamientos T₀ y T₁; plantas sin injertar e injertadas inoculadas con *P. capsici* respectivamente. En las dos ocasiones, la solución de zoosporas fue aplicada en la base del tallo de las plantas y a 2 cm de profundidad (Figura 2). Se mantuvieron

condiciones de alta humedad en el sustrato mediante riegos pesados un día antes de la inoculación y durante los primeros dos días después de la inoculación para facilitar el movimiento de las zoosporas.



FIGURA 2. Inoculación con una suspensión de zoosporas de *Phytophthora capsici* L. a plantas injertadas de pimiento morrón sobre CM-334 (A) y plantas de pimiento morrón sin injertar (B).

La primera inoculación se realizó a los 61 ddt cuando las plantas estaban en plena floración con una suspensión de 5 mL de zoosporas de *P. capsici* (2000 zoosporas/mL), con un total de 10,000 zoosporas por maceta.

Con el objetivo de acentuar el efecto de *P. capsici* en las variables morfológicas y el rendimiento, se realizó una segunda inoculación a los 84 ddt. Las plantas se inocularon con una suspensión de 2 mL de zoosporas de *P. capsici* (50 000 zoosporas/mL), con un total de 100 000 zoosporas por maceta.

2.4.2.3 Evaluación de la enfermedad y re-aislamiento del patógeno

Las plantas se monitorearon diario posterior a la inoculación, las de marchitamiento severo e irreversible se consideraron como plantas muertas. Solo se evaluaron dos reacciones fenotípicas en las plantas: resistentes y susceptibles.

Con base en estas observaciones se determinó la incidencia de la enfermedad en los tratamientos inoculados con el patógeno.

$$\text{Incidencia de la enfermedad} = \frac{\text{No. de plantas muertas} * 100}{\text{No. de plantas totales por tratamiento}}$$

Para confirmar la presencia de *P. capsici*, se colectaron plantas marchitas, se colocaron en bolsas de papel y se trasladaron al Laboratorio de Micología Agrícola del Departamento de Parasitología Agrícola. Se cortaron trozos pequeños de tejidos afectados (base del tallo y raíces), se eliminó tierra y otras impurezas con un lavado de agua potable. Posteriormente se desinfectaron durante tres minutos con hipoclorito de sodio (1%) seguido de un enjuague con agua destilada estéril y se secaron con una toalla de papel. Los tejidos se sembraron en cajas Petri con medio esterilizado agua-agar (A-A) y se mantuvo a temperatura ambiente. Cuando se observó el crecimiento micelial al cuarto día, se realizó la transferencia nuevamente a medio A-A. El crecimiento se purificó mediante la técnica de punta de hifa en medio esterilizado agar-jugo V8® a temperatura ambiente.

El cultivo purificado se sembró en cajas Petri de 9 cm de diámetro con medio jugo V8®-agar y se mantuvo a temperatura ambiente durante cuatro días periodo en el cual la cepa cubrió toda la caja. En cajas de Petri de 9 cm de diámetro con medio de cultivo jugo V8® se colocaron cuatro hojas de chile, las cuales previamente se esterilizaron al hervirlas durante siete minutos en agua destilada. Posteriormente, de los aislados cultivados se extrajeron rodajas de 1 cm de diámetro del micelio y se colocaron en las cajas con las hojas de chile. Se agregaron 20 mL de agua destilada y se colocaron bajo luz blanca a temperatura ambiente durante cinco a siete días. A partir del quinto día, se monitorearon las cajas hasta observar la formación de esporangios. Se realizaron preparaciones al microscopio óptico fotónico para observar las características del micelio y los esporangios para confirmar la presencia de *P. capsici*.

2.5 Variables Evaluadas en los Dos Experimentos

2.5.1 Variables morfológicas

Índice de área foliar (IAF)

El índice de área foliar expresado en m^{-2} de área foliar $\cdot \text{m}^{-2}$ de superficie de suelo se midió con un integrador a área foliar LI-COR ® modelo LI-3100 (Lincoln, Nebraska). Se obtuvo al dividir el área foliar por planta entre la superficie ocupada por cada planta (0.4 m^{-2}) de acuerdo a la densidad de plantación del cultivo ($2.5 \text{ plantas m}^{-2}$) y se utilizaron los valores de cinco plantas por tratamiento.

Peso seco total por planta (PST)

Las hojas, tallo y raíz de cada planta se colocaron en una estufa de secado a 70°C durante 72 horas para obtener el peso constante en gramos. Se sumó el peso seco de todos los frutos producidos por planta, obtenido con estimadores a partir del peso fresco. Se utilizaron los valores de cinco plantas por tratamiento.

Altura de planta (AP)

Después de la última cosecha, se midió la altura de la planta en centímetros (distancia promedio de los dos tallos más largos medidos de la superficie de la maceta al penúltimo nudo de cada tallo). Se utilizaron los valores medios de 10 plantas con cuatro repeticiones por cada tratamiento.

Altura a la primera bifurcación (AB)

Se midió la altura en centímetros a la primera bifurcación de cada planta (medida de la superficie de la maceta hasta el primer nudo de cada tallo). Se utilizaron los valores medios de 10 plantas con cuatro repeticiones por cada tratamiento.

Diámetro de tallo (DT)

Se midió el diámetro de tallo 1.5 cm arriba de la cicatriz del injerto para el caso de las plantas injertadas y 1.5 cm arriba de las hojas cotiledones en el caso de las

plantas no injertadas después del último corte de frutos. Se utilizaron los valores medios de 10 plantas con cuatro repeticiones por cada tratamiento.

Porcentaje de amarre de frutos

Se contaron los nudos por planta y el número de frutos amarrados y se calculó el porcentaje de amarre de frutos por planta en diez plantas por cada tratamiento.

$$\text{Porcentaje de amarre de frutos} = \frac{\text{Número de frutos amarrados} * 100}{\text{Número total de nudos}}$$

Los valores de porcentaje de amarre de frutos fueron transformados con arc seno antes de realizar el análisis de varianza.

2.5.2 Variables del rendimiento y sus componentes

Frutos totales por planta (FT)

Los frutos se cosecharon con al menos 50 % de su coloración. Todos los frutos fueron contados y clasificados por tamaño de acuerdo con la escala de diámetro utilizada para pimientos de invernadero de exportación: extra-grande (diámetro > 84.0 mm), grande (76.0 a 83.9 mm), mediano (64.0 a 75.9 mm) y pequeño (56.0 a 63.9 mm) (Jovicich *et al.*, 2004). Los frutos no comercializables incluyen los frutos aplanados sin semilla (frutos sin polinizar), deformes, con pudrición apical (BER) y frutos con diámetros menores a 55.9 mm. Los frutos totales por planta es el valor medio de la producción de 10 plantas con cuatro repeticiones en cinco cortes.

Frutos comercializables (FC)

Se contabilizaron los frutos que entraron en las categorías utilizadas para pimiento de invernadero de exportación: extra-grande, grande, mediano y pequeño. Los frutos comercializables por planta es el valor medio de la producción de 10 plantas con cuatro repeticiones en cinco cortes.

Peso de fruto por planta (PF)

Se registró el peso de todos los frutos y se clasificaron en comercializables y no comercializables. El peso de fruto por planta es el valor medio de la producción de frutos comercializables de 10 plantas con cuatro repeticiones en cinco cortes.

Diámetro de fruto (DF)

Este valor se midió en la parte basal del fruto con ayuda de un vernier electrónico digital. El diámetro de fruto es el valor medio de los diámetros de frutos comercializables de 10 plantas con cuatro repeticiones en cinco cortes.

Longitud de fruto (LF)

Este valor corresponde a la distancia comprendida entre la parte basal del fruto y el ápice del fruto medido con un vernier electrónico digital. La longitud de fruto es el valor medio de la longitud de frutos comercializables de 10 plantas con cuatro repeticiones en cinco cortes.

Número de frutos por m² (NFM²)

Este valor se estimó a partir de la densidad utilizada en el cultivo; 2.5 plantas/m², tomando en cuenta los valores medios de frutos comercializables de 10 plantas con cuatro repeticiones en cinco cortes.

Rendimiento promedio (RP)

Se estimó a partir de la densidad utilizada en el cultivo; 2.5 plantas/m², tomando en cuenta los valores medios de frutos comercializables de 10 plantas con cuatro repeticiones en cinco cortes y se expresó en ton·ha⁻¹.

2.6 Análisis Estadístico

En ambos experimentos, los datos de las variables morfológicas y de rendimiento fueron analizados estadísticamente mediante un Análisis de Varianza y se realizó la comparación de medias (Tukey, P 0.05) utilizando el software SAS (SAS Institute, 1999).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Efecto del CM-334 como portainjerto de pimiento morrón en las variables morfológicas y de rendimiento

En este experimento, el análisis de varianza (Cuadro 1) mostró diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) en todas las variables morfológicas; excepto en el porcentaje de amarre de frutos, por lo que se apreció un efecto importante de las condiciones de planta.

CUADRO 1. Cuadrados medios de los análisis de varianza para las variables morfológicas al evaluar el efecto del portainjerto CM-334.

F.V.	IAF (m ² m ⁻²)	PST (g)	PSR (g)	AP (cm)	AB (cm)	DT (cm)	PAF (%)
Condiciones de planta	1.98*	6542.34*	117.99*	871.53*	73.21*	0.1105*	10.72 ^{NS}
Error	0.02	680.84	7.15	51.79	2.802	0.0051	100.03
CV	6.93	11.85	14.85	7.001	5.29	6.733	22.43
Media	2.1	220.25	18.01	102.79	31.6	1.0625	44.59

F.V.: Fuentes de variación; IAF: Índice de área foliar; PST: Peso seco total; PSR: Peso seco de raíz; AP: Altura de planta; AB: Altura a la primera bifurcación; DT: Diámetro de tallo; PAF: Porcentaje de amarre de fruto; C.V.: Coeficiente de variación.

La reducción de todos los valores de las variables morfológicas en las plantas injertadas; a excepción del porcentaje de amarre de frutos, muestran un efecto negativo del patrón CM-334 en el desarrollo de las plantas (Cuadro 2). El valor del índice de área foliar (IAF) es 0.89 mayor en plantas sin injertar. Sin embargo, en las dos condiciones de planta, el IAF estuvo por debajo del óptimo, tres y cuatro para pimiento morrón (Résendiz-Melgar *et al.*, 2010). Dentro de ciertos límites, un mayor IAF está asociado a mayor intercepción de radiación fotosintéticamente activa (RFA) y mayor producción de materia seca por unidad de tiempo, lo que explica que el peso seco total (PST) y el peso seco de raíz (PSR) también disminuyeron en promedio 51.16 g y 6.87 g respectivamente en plantas injertadas. La altura de la planta (AP) y altura a la primera bifurcación (APB) tuvieron un comportamiento similar, ya que sus valores se redujeron en un 20.88 cm (18 %) y

6.05 cm (17 %) en promedio, respectivamente en plantas injertadas. Este comportamiento se reportó previamente en plantas de pimiento morrón injertadas (Ros *et al.*, 2005). Por su parte, Santos y Goto (2004) observaron variaciones significativas en la altura de las plantas de pimiento injertadas dependiendo del portainjerto utilizado, ya que unas combinaciones se desarrollan más que otras, lo cual es atribuido a la influencia del linaje de los portainjertos utilizados (el CM-334 era uno de los progenitores) o a alguna exigencia no conocida en el manejo del riego y la nutrición. El diámetro de tallo disminuyó 0.23 cm en promedio en plantas injertadas. García-Rodríguez *et al.* (2010) reportaron un comportamiento contrario en la combinación chile ancho/CM-334, puesto que el valor del diámetro de plantas injertadas fue mayor que el de plantas de chile ancho sin injertar (Cuadro 2).

CUADRO 2. Comparación de medias de las condiciones de la planta para las variables morfológicas al evaluar el efecto del portainjerto CM-334.

Condiciones de la planta	IAF (m ² ·m ⁻²) ^w	PST (g) ^w	PSR (g) ^w	AP (cm) ^x	APB (cm) ^x	DT (cm) ^x	PAF (%) ^y
Cannon sin injertar	2.54 a ^z	245.83 a	21.44 a	113.23 a	34.63 a	1.18 a	45.32 a
Cannon sobre CM-334	1.65 b	194.67 b	14.57 b	92.35 b	28.58 b	0.95 b	43.85 a
DMS	0.212	56.375	3.89	12.452	2.89	0.1238	9.39

^wValores de cinco repeticiones por tratamiento. ^xValores medios de 10 plantas con cuatro repeticiones. ^yValores de 10 repeticiones por tratamiento. ^zValores con la misma letra en cada columna son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey a una *P* 0.05. IAF: Índice de área foliar; PST: Peso seco total; PSR: Peso seco de raíz; AP: Altura de planta; APB: Altura a la primera bifurcación; DT: Diámetro de tallo; PAF: Porcentaje de amarre de fruto.

DMS: Diferencia mínima significativa.

El crecimiento de las plantas está influenciado por varios factores como las condiciones climáticas, la nutrición y la actividad hormonal, los cuales están relacionados con diferentes procesos fisiológicos. Durante los meses de agosto y septiembre del ciclo de cultivo de nuestro experimento hubo condiciones de días nublados y durante diciembre, enero y febrero condiciones de días fríos, lo que

aunado a la disminución de la radiación por efecto de los cristales del invernadero, limitó la irradiancia necesaria para acumular suficiente materia seca en la planta con consecuencias directas sobre las variables morfológicas y de rendimiento de todas las plantas. Por otra parte, los nutrimentos minerales y el agua son generalmente absorbidos por las raíces y transportados en la savia del xilema a la parte superior de la planta. Una inspección visual mostró un sistema radical más abundante en las plantas de pimiento morrón sin injertar (Figura 3), tal como se ve reflejado en la comparación de medias para el peso seco de raíz (PSR) (Cuadro 2). Además, la injertación puede producir alteraciones en la absorción y transporte de nutrimentos y agua (Santos y Goto, 2004), por lo que es probable que la conductividad hidráulica del xilema también esté restringida como consecuencia del proceso de injertación. En conjunto, las condiciones adversas durante el ciclo de cultivo, un sistema radical menos eficiente y las alteraciones en la absorción y transporte de nutrientes y agua son las probables causas de la disminución del crecimiento de las plantas injertadas.

También se pudo observar varios tipos de interacción en la interface de injerto que evidenciaban cómo el portainjerto influenciaba negativamente en el aporte de vigor al injerto. Algunas plantas injertadas mostraban diámetros de tallo del portainjerto menores que el tallo del injerto (Figuras 4A y 4B), mientras que en otras; aparentemente mejor adaptadas, los diámetros del portainjerto y del injerto fueron muy similares (Figuras 4C y 4D). Es probable que la heterogeneidad del CM-334 sea el factor principal en los diferentes tipos de respuestas en los que la combinación portainjerto-injerto se adapta. 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.



FIGURA 3. Sistema radical de pimiento morrón (*Capsicum annuum* cv. Cannon) injertado sobre CM-334 (izquierda) y sin injertar (derecha).

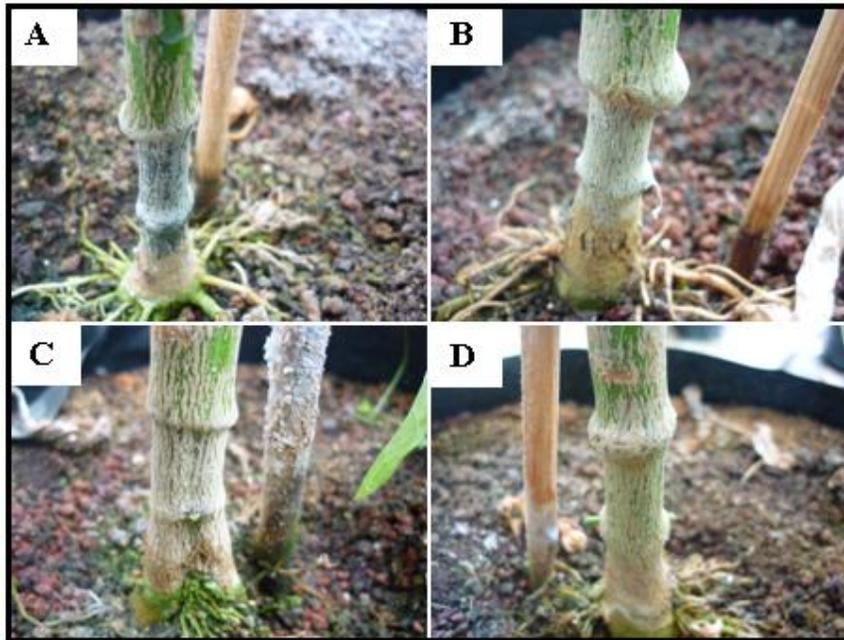


FIGURA 4. Diferentes tipos de interacción en la interface de injerto de plantas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* cv. Cannon) sobre CM-334. Plantas con tallos de portainjerto e injerto diferentes (A, B) y plantas con tallos de portainjerto e injerto similares (C, D).

La cosecha de las plantas no injertadas empezó a las 16 semanas después del trasplante, mientras que los frutos de las plantas injertadas alcanzaron la maduración deseada a las 17 semanas después del trasplante. Por otra parte, el análisis de varianza muestra diferencias estadísticamente significativas para todas las variables de rendimiento (Cuadro 3).

CUADRO 3. Cuadrados medios de los análisis de varianza para las variables indicadoras de rendimiento al evaluar el efecto del portainjerto CM-334.

F.V.	Número de frutos		PF (g)	LF (cm)	DF (cm)	NFM ² (frutos·m ²)	R (t·ha ⁻¹)
	FT	FC					
Condiciones de planta	3.12*	4.81*	2356.75*	1.79*	0.39*	30.03*	224.08*
Error	0.50	0.48	82.34	0.29	0.02	2.99	3.92
CV	10.5	11.67	6.51	6.21	1.85	11.67	9.47
Media	6.75	5.93	139.46	8.77	7.46	14.81	20.92

F.V.: Fuentes de variación; FT: Frutos totales; FC: Frutos comercializables; PF: Peso de fruto; LF: Longitud de fruto; DF: Diámetro de fruto; NFM²: Número de frutos por m²; R: Rendimiento. C.V.: Coeficiente de variación.

^{NS},*: No significativo y significativo a una *P* 0.05, respectivamente.

El injerto del pimiento morrón cv. Cannon sobre el CM-334 es intraespecífico, ya que ambos pertenecen al mismo género y especie (*Capsicum annuum* L.), lo que puede anticipar menos efectos negativos en términos de productividad, calidad de fruto y compatibilidad de injerto (Louws *et al.*, 2010). Sin embargo, esta hipótesis no se cumple en nuestro experimento, puesto que la producción de frutos totales (FT) y frutos comercializables (FC) se redujo en un 1.25 y 1.55 unidades, respectivamente para el caso de las plantas injertadas. De estos resultados se deduce que el número de frutos no comercializables se incrementa en plantas injertadas, lo cuales solo incluían a frutos aplanados, deformes y con diámetros menores a 55.9 mm, puesto que no se registró la presencia de frutos con pudrición apical. El peso de fruto (PF) se redujo en un 34.34 g en promedio, el número de frutos por m² se redujo en 3.87 unidades y el calibre de fruto (diámetro y longitud de fruto) también fue estadísticamente menor en plantas injertadas. En consecuencia, el rendimiento de las plantas injertadas también disminuyó drásticamente en 10.59 ton ha⁻¹; equivalente a 40%, con respecto a las plantas sin injertar, lo que evidencia una mala interacción entre el portainjerto y el injerto (Cuadro 4). García-Rodríguez *et al.* (2010) describieron un efecto similar, pues al injertar chile ancho sobre CM-334 el rendimiento disminuyó en 19%. En contraparte; mediante una serie de experimentos en invernadero, Morra y Billoto (2006) demostraron que los híbridos Graffito y Gc 1002; ambos descendientes del

CM-334, utilizados como portainjertos de injerto de pimiento morrón, se puede alcanzar un incremento de hasta 56 % en el rendimiento sin disminuir el crecimiento y tamaño de fruto en comparación con otros patrones y con plantas sin injertar, en todos los casos bajo la presencia de *P. capsici*. Además, Graffito presentó un buen nivel de tolerancia a *Meloidogyne incognita* pero ningún portainjerto fue suficientemente resistente a un complejo de patógenos causales de marchitez. En un estudio más reciente, Gisbert *et al.* (2010) evaluaron como portainjerto a los híbridos Charlot y Foc; ambos descendientes del CM-334, sin encontrar diferencias en el vigor puesto que algunas combinaciones de injerto mostraron precocidad y mayores rendimientos con respecto a otras combinaciones y plantas sin injertar. Los resultados de Morra y Billoto (2006) y Gisbert *et al.* (2010), están relacionados posiblemente con la utilización de portainjertos híbridos que son capaces de otorgar mayor vigor al injerto. Además, en los experimentos de Morra y Billoto (2006) el porcentaje alto en el incremento del rendimiento se debió a un período de cosecha más amplio (tres meses) y a que las plantas sin injertar presentaron una tasa de mortalidad por *P. capsici* cercana a 32%, lo que evidentemente disminuyó su rendimiento.

CUADRO 4. Comparación de medias de las condiciones de injerto de la planta para las variables de rendimiento al evaluar el efecto del portainjerto CM-334.

Condiciones de la planta	Número de frutos		PF (g) ^y	LF (cm) ^y	DF (cm) ^y	NFM ² (frutos·m ²) ^y	R (t·ha ⁻¹) ^y
	FT ^y	FC ^y					
Cannon sin injertar	7.38 a ^z	6.7 a	156.63 a	9.25 a	7.68 a	16.75 a	26.22 a
Cannon sobre CM-334	6.13 b	5.15 b	122.29 b	8.30 b	7.24 b	12.88 b	15.63 b
DMS	1.23	1.19	15.70	0.94	0.24	2.99	3.43

^yValores medios de la producción de 10 plantas en cuatro repeticiones y cinco cortes. ^zValores con la misma letra en cada columna son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey a una *P* 0.05. FT: Frutos totales; FC: Frutos comercializables; PF: Peso de fruto; LF: Longitud de fruto; DF: Diámetro de fruto; NFM²: Número de frutos por m²; R: Rendimiento.

DMS: Diferencia mínima significativa.

3.2 Efecto de *Phytophthora capsici* en las variables morfológicas y de rendimiento

Solo la variable morfológica de peso seco de raíz (PSR) presentó diferencias significativas por efecto de las inoculaciones con *Phytophthora capsici*. En el resto de las variables morfológicas y de rendimiento no se encontró evidencia de algún efecto de las condiciones de inóculo de la planta; es decir, *Phytophthora capsici* no tuvo influencia en las plantas injertadas que fueron inoculadas artificialmente con el patógeno con respecto a las plantas injertadas que no fueron inoculadas, según lo muestran los análisis de varianza realizados ($P < 0.05$) (Cuadros 5 y 6).

CUADRO 5. Cuadrados medios de los análisis de varianza para las variables morfológicas al evaluar el efecto de *Phytophthora capsici*.

F.V.	IAF (m ² ·m ⁻²)	PST (g)	PSR (g)	AP (cm)	AB (cm)	DT (cm)	PAF (%)
Condiciones de inóculo de la planta							
de inóculo	0.081 ^{NS}	467.04 ^{NS}	43.85*	95.22 ^{NS}	0.025 ^{NS}	0.378 ^{NS}	335.46 ^{NS}
Error	0.026	1279.56	5.11	67.28	1.79	0.224	161.3
CV	10.23	19.04	18.12	9.23	4.68	5.13	26.49
Media	1.56	187.84	12.48	88.9	28.63	9.23	47.95

F.V.: Fuentes de variación; IAF: Índice de área foliar; PST: Peso seco total; PSR: Peso seco de raíz; AP: Altura de planta; AB: Altura a la primera bifurcación; DT: Diámetro de tallo; PAF: Porcentaje de amarre de fruto; C.V.: Coeficiente de variación.

^{NS},*: No significativo y significativo a una $P < 0.05$, respectivamente.

CUADRO 6. Cuadrados medios de los análisis de varianza para las variables indicadoras de rendimiento al evaluar el efecto de *Phytophthora capsici*.

F.V.	Número de frutos		PF (g)	LF (cm)	DF (cm)	NFM ⁻² (frutos·m ²)	R (t·ha ⁻¹)
	FT	FC					
Condiciones de inóculo de la planta	0.66 ^{NS}	1.36 ^{NS}	69.44 ^{NS}	0.11 ^{NS}	0.01 ^{NS}	8.51 ^{NS}	6.64 ^{NS}
Error	1.11	0.59	83.52	0.23	0.02	3.75	3.43
CV	18.02	16.34	7.29	5.74	1.74	16.34	12.59
Media	5.84	4.74	125.24	8.42	7.27	11.84	14.72

F.V.: Fuentes de variación; FT: Frutos totales; FC: Frutos comercializables; PF: Peso de fruto; LF: Longitud de fruto; DF: Diámetro de fruto; NFM⁻²: Número de frutos por m²; R: Rendimiento. C.V.: Coeficiente de variación.

^{NS},*: No significativo y significativo a una *P* 0.05, respectivamente.

Como se indicó anteriormente, el PSR de las plantas injertadas e inoculadas fue 29 % menor en comparación con las plantas injertadas que no interactuaron con el patógeno (Cuadro 7), lo cual coincide con lo reportado por Gisbert *et al.* (2010) quienes encontraron que plantas asintomáticas de CM-334 inoculadas con el aislado Pc-8 de *Phytophthora capsici* presentaron 30 % de PSR menor comparado con plantas sin inocular. La evidencia experimental indica que la resistencia del CM-334 a *P. capsici* en la raíz, no está dada por barreras físicas que impidan la penetración del oomiceto; de hecho cuando el oomiceto penetra los tejidos ocurre un aumento en la expresión de los genes *PAL* que codifican para la enzima fenilalanina amino-liasa (PAL), la cual está asociada con cambios cuantitativos y cualitativos en los componentes fenólicos que inhiben el crecimiento de *P. capsici in vitro* (Fernández-Pavía y Liddell, 1997). También se ha encontrado que la fitoalexina capsidiol se acumula en concentraciones tóxicas para el oomiceto en el CM-334 (Candela *et al.*, 2000; Villa-Luna *et al.*, 2009). La defensa química del portainjerto beneficia al injerto susceptible, el cual al no estar en contacto con el patógeno evade la enfermedad.

Es importante señalar que las plantas injertadas sometidas al estrés del patógeno fueron resistentes a lo largo del ciclo de cultivo y no se pudo observar una

tendencia diferente en el crecimiento con respecto a las plantas injertadas y sin inocular (Cuadro 7), lo cual viene a confirmar el alto grado de resistencia del CM-334 a *P. capsici* aún en presencia de grandes cantidades de inóculo. Sin embargo, la altura de las plantas disminuyó en promedio 7.5 % en plantas injertadas e inoculadas, aunque estadísticamente esta diferencia no es significativa. Gisbert *et al.* (2010) señalaron que en plantas inoculadas asintomáticas del CM-334 el crecimiento se reduce de un 10 al 20 % dependiendo de la cepa utilizada y lo atribuyen a la disminución del sistema radical. Es probable que este mismo efecto ocurriera en nuestro experimento, afectando ligeramente la altura de la planta injertada. Los diámetros de tallo no mostraron diferencias significativas, lo cual discrepa con lo reportado por García-Rodríguez *et al.* (2010), ya que señalan que el diámetro de las plantas injertadas en interacción con *P. capsici* disminuye en comparación con plantas injertadas que no interactúan con el patógeno, similar a lo que encontraron Kokalis-Burelle *et al.* (2009) en portainjertos tolerantes a *M. incognita*. Por lo tanto, los resultados del presente estudio son evidencia de que diferentes combinaciones de portainjerto-injerto interactúan de manera diferente en interacción con *P. capsici*.

CUADRO 7. Comparación de medias de las condiciones de inóculo de la planta para las variables morfológicas al evaluar el efecto de *Phytophthora capsici*.

Condiciones de inóculo de la planta	IAF (m ² ·m ⁻²) ^w	PST (g) ^w	PSR (g) ^w	AP (cm) ^x	APB (cm) ^x	DT (cm) ^x	PAF (%) ^y
Sin inocular	1.65 a ^z	194.67 a	14.57 a	92.35 a ^z	28.58 a	0.95 a	43.85 a
Inoculada	1.47 a	181.01 a	10.38 b	85.45 a	28.69 a	0.902 a	52.05 a
DMS	0.233	52.57	3.29	14.19	2.32	0.819	11.93

^wValores de cinco repeticiones por tratamiento. ^xValores medios de 10 plantas con cuatro repeticiones. ^yValores de 10 repeticiones por tratamiento. ^zValores con la misma letra en cada columna son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey a una *P* 0.05. IAF: Índice de área foliar; PST: Peso seco total; PSR: Peso seco de raíz; AP: Altura de planta; APB: Altura a la primera bifurcación; DT: Diámetro de tallo; PAF: Porcentaje de amarre de fruto.

DMS: Diferencia mínima significativa.

Como se mencionó *P. capsici* logró una afectación ligera del crecimiento no significativa; sin embargo, estadísticamente tampoco existe un efecto en las variables de rendimiento (Cuadro 8).

CUADRO 8. Comparación de medias de las condiciones de injerto de la planta para las variables de rendimiento al evaluar el efecto de *Phytophthora capsici*.

Condiciones de inóculo de la planta	Número de frutos		PF (g) ^y	LF (cm) ^y	DF (cm) ^y	NFM ² (frutos·m ²) ^y	R (t·ha ⁻¹) ^y
	FT ^y	FC ^y					
Inoculada	5.55 a ^z	4.33 a	128.19 a	8.53 a	7.31 a	10.81 a	13.81 a
Sin inocular	6.12 a	5.15 a	122.29 a	8.30 a	7.24 a	12.87 a	15.63 a
DMS	1.82	1.34	15.81	0.83	0.22	3.35	3.21

^yValores medios de la producción de 10 plantas en cuatro repeticiones y cinco cortes. ^zValores con la misma letra en cada columna son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey a una *P* 0.05. FT: Frutos totales; FC: Frutos comercializables; PF: Peso de fruto; LF: Longitud de fruto; DF: Diámetro de fruto; NFM²: Número de frutos por m²; R: Rendimiento.

DMS: Diferencia mínima significativa.

3.2.1 Evaluación de la enfermedad y re-aislamiento del patógeno

Las plantas de pimiento morrón cv. Cannon sin injertar son susceptibles al aislamiento 6143 de *Phytophthora capsici*, ya que presentaron 100% de incidencia de la enfermedad; mientras que las plantas de pimiento morrón cv. Cannon injertadas en SCM-334 son resistentes (Figura 5). Las plantas inoculadas y sin injertar presentaron los síntomas característicos del ataque por *P. capsici* y tras aproximadamente 16 días a partir de que se observaba un ligero marchitamiento, todas las plantas murieron en este tratamiento, por lo que no generaron información para ser consideradas como testigos. A los ocho días después de la inoculación (ddin), las primeras plantas presentaron síntomas de una marchitez ligera sin daño aparente en la base del tallo. Esta condición podía observarse principalmente en las horas del día con mayor intensidad luminosa y temperatura. Aunque a la mañana siguiente las plantas se observaban turgentes, el daño fue progresando hasta que en el día 12 ddin; además de un marchitamiento más

pronunciado, fue posible observar un cancro en la base del tallo. A los 16 ddin, el marchitamiento fue irreversible y las plantas se consideraron muertas. Cuando el patógeno se instaló completamente en el sistema radical de las plantas atacadas y al restringirse completamente el transporte de agua y nutrimentos a la parte aérea, las plantas colapsaron y se defoliaron parcialmente (Figura 6).

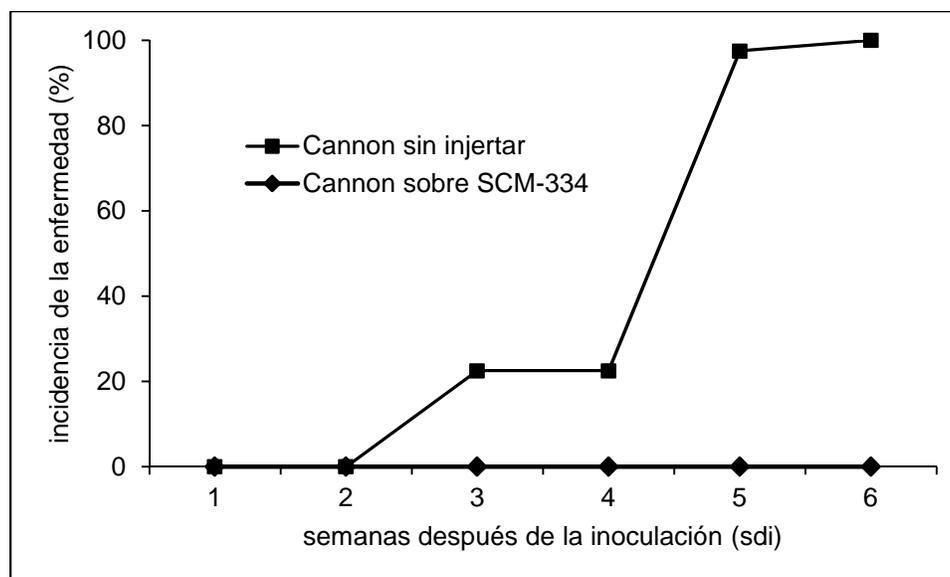


FIGURA 5. Incidencia de la enfermedad (%) en un grupo de 80 plantas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* cv. Cannon) sin injertar e injertadas sobre CM-334. Las plantas fueron inoculadas dos veces con *P. capsici* (a un intervalo de 23 días entre cada inoculación). Se utilizó una suspensión de 5 mL de zoosporas de *P. capsici* (2000 zoosporas mL) en la primera inoculación y de 2 mL de zoosporas de *P. capsici* (50 000 zoosporas mL) en la segunda inoculación.



FIGURA 6. Progreso de la enfermedad observado en las primeras plantas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* cv. Cannon) sin injertar con síntomas tras la primera inoculación artificial de *Phytophthora capsici*.

En contraste, las plantas injertadas e inoculadas no presentaron ningún síntoma visible y tuvieron desarrollo normal hasta la fructificación (Figura 7).



FIGURA 7. Plantas de pimiento morrón (*Capsicum annuum* cv. Cannon) injertadas sobre CM-334 pocos días después de ser inoculadas (izquierda) y en fructificación (centro y derecha) sin ningún síntoma del ataque de *Phytophthora capsici*.

Las características de los aislamientos obtenidos a partir de plantas con síntomas corresponden a las del oomiceto *P. capsici*, puesto que el micelio es cenocítico y los esporangios con una sola papila conspicua tienen forma alimonada y se encuentran sostenidos en pedicelos caducos (Figura 8A). No se observaron otras formas de esporangios. En la Figura 8B se pueden observar un esporangio maduro con zoosporas diferenciadas, las cuales mediante un geotropismo negativo y quimiotácticamente nadan siguiendo un gradiente de nutrientes hasta alcanzar la superficie de la planta; en este caso la raíz, donde se enquistan y germinan para generar tubos germinativos.

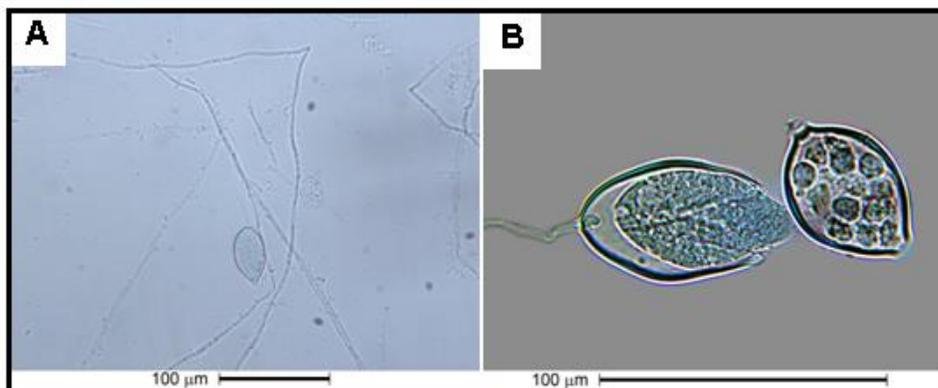


FIGURA 8. Esporangióforo y su esporangio con papila conspicua en forma alimonada de *Phytophthora capsici* (A), esporangios maduros con zoosporas diferenciadas en su interior (B).

En los experimentos de esta investigación, las plantas que fueron injertadas y no fueron inoculadas evidenciaron una reducción significativa en el crecimiento y el rendimiento con respecto a plantas sin injertar y que no fueron expuestas al patógeno. Sin embargo, es importante señalar que ninguna de las plantas sin injertar bajo el estrés del patógeno sobrevivió. Este hecho, denota la importancia de la técnica de injertos cuando la presión de la enfermedad es muy alta, ya que en ausencia de un cultivar de pimiento morrón con un buen nivel de resistencia a *P. capsici* podría alcanzar 100% de mortalidad de las plantas.

Por otra parte, la utilización de macetas individuales por planta y las inoculaciones artificiales controladas nos permitió aislar el efecto de *P. capsici* para comparar el diferencial de vigor que existe entre las plantas injertadas y plantas sin injertar, una característica que no se había estudiado puesto que los trabajos realizados al respecto se han llevado a cabo en condiciones de suelo naturalmente infestado con *P. capsici* ocasionando un alto porcentaje de mortalidad en las plantas sin injertar.

Es importante señalar que la técnica de injertos no puede usarse como un método único para reducir la incidencia de la enfermedad. El uso continuo de portainjertos resistentes en un mismo terreno podría ocasionar el surgimiento de poblaciones resistentes a *P. capsici*, como ha ocurrido con portainjertos resistentes a *Meloidogyne incognita* (Ros *et al.*, 2005). Por otra parte, una combinación intraespecífica a menudo se basa en el uso de genes de resistencia principales que pueden ser superados por razas nativas o nuevas del patógeno que se está combatiendo (Louws *et al.*, 2010). Otras alternativas no químicas que pueden combinarse con la técnica de injertación de plántulas son la biofumigación (incorporación de estiércol animal al suelo) y la solarización del suelo (Ros *et al.*, 2005). Uno de las grandes inconvenientes asociados al uso de plántula injertada es su costo relativamente alto; sin embargo, su costo puede ser compensado por el ahorro en el gasto del manejo de enfermedades, particularmente el de desinfestación del suelo.

4. CONCLUSIONES

El portainjerto CM-334 disminuyó el vigor de la planta injertada en comparación con plantas sin injertar; sin embargo, es capaz de conferir resistencia a *Phytophthora capsici* a la planta injertada. Bajo condiciones de alta presión del patógeno, las plantas de pimiento morrón cv. Cannon presentaron 100 % de incidencia de la enfermedad.

En general, no hubo un efecto de *P. capsici* sobre las variables morfológicas y de crecimiento de plantas injertadas en comparación con plantas injertadas que no fueron expuestas al patógeno.

5. CONCLUSIONES GENERALES

Los resultados de esta investigación sugieren que el uso de portainjertos de pimiento morrón consistentemente resistentes a *P. capsici*; como el caso del CM-334, pueden ser un método de manejo de la enfermedad efectivo cuando la presión de la enfermedad es muy alta, especialmente en ausencia de cultivares resistentes a la enfermedad o cuando no sea posible el uso de fungicidas, como en la producción orgánica. Esta técnica, también puede presentar grandes ventajas en sistemas hidropónicos cuando las posibilidades de rápida diseminación de la enfermedad son altas una vez que se presenten las primeras plantas enfermas.

6. LITERATURA CITADA

ALCONERO, R.; SANTIAGO, A. 1972. Characteristics of asexual sporulations in *Phytophthora palmivora* and *Phytophthora parasitica nicotianae*. *Phytopathology* 62: 993-997.

BERNHARDT, E. A.; GROGAN, R. G. 1982. Effect of soil matric potential on the formation and indirect germination of sporangia of *Phytophthora parasitica*, *Phytophthora capsici*, and *Phytophthora cryptogea* in rots of tomatoes, *Lycopersicon esculentum*. *Phytopathology* 72: 507-511.

CANDELA, M. E.; EGEA, C.; GARCÍA-PÉREZ, M. D.; COSTA, J.; CANDELA, M. 2000. Breeding paprika type peppers resistant to *Phytophthora capsici*. *Acta Horticulturae* 522: 79-86.

CANDOLE, B. L.; CONNER, P. J.; JI, P. 2010. Screening *Capsicum annum* accessions for resistance to six isolates of *Phytophthora capsici*. *HortScience* 45(2): 254-259.

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 méthodes alternatives: Le greffage du poivron. Ctfil No. 3. France. 5 p.

ERWIN, C. D.; RIBEIRO, K. O. 1996. *Phytophthora* Diseases Worldwide. APS-Press. USA. 562 p.

FERNÁNDEZ-PAVIA, S.; LIDDELL, C. 1997. Resistance of *Capsicum annuum* CM-334 to *Phytophthora capsici* root rot and phenol biosynthesis. *Phytopathology* 87: 529.

FOSTER, J. M.; HAUSBECK, M. K. 2010. Resistance of pepper to *Phytophthora* crown, root, and fruit rot is affected by isolate virulence. *Plant Disease* 94: 24-30.

GARCÍA-RODRÍGUEZ, M. R.; CHIQUITO-ALMAZA, E.; LOEZA-LARA, P. D.; GODOY-HERNÁNDEZ, H.; VILLORDO-PINEDA E.; PONS-HERNÁNDEZ, J. L.; GONZÁLEZ-CHAVIRA, M. M.; ANAYA-LÓPEZ, J. L. 2010. Producción de chile ancho injertado sobre Criollo de Morelos 334 para el control de *Phytophthora capsici*. *Agrociencia* 44: 701-709.

GARCÍA, R. S.; JUÁREZ, C.; CARRILLO, J. A.; ALLENDE, R.; MARQUÉZ, I.; MUY-RANGEL, M. D. 2000. Marchitez bacteriana en chile bell causada por *Erwinia carotovora* sub spp. *Carotovora*. *Revista Mexicana de Fitopatología* 18: 120-124.

GISBERT, C.; SANCHEZ-TORRES, P.; RAIGON, M.; NUEZ, F. 2010. *Phytophthora capsici* resistance evaluation in pepper hybrids: Agronomic performance and fruit quality of pepper grafted plants. *International Journal of Food, Agriculture and Environment* 8(1): 116-121.

GLOSIER, B. R.; OGUNDIWIN, E. A.; SIDHU, G. S.; SISCHO, D. R.; PRINCE, J. P. 2008. A differential series of pepper (*Capsicum annuum*) lines delineates fourteen physiological races of *Phytophthora capsici*. *Euphytica* 162: 23-30.

GONZÁLEZ-PÉREZ, E.; YAÑEZ-MORALES, M. J.; SANTIAGO-SANTIAGO, V.; MONTERO-PINEDA, A. 2004. Biodiversidad fungosa en la marchitez del chile y algunos factores involucrados en Tlacotepec de José Manzano, El Verde, Puebla. *Agrociencia* 38: 635-661

GUIJÓN-LÓPEZ, C.; GONZÁLEZ-GONZÁLEZ, P. A. 2001. Estudio regional de las enfermedades del chile (*Capsicum annuum* L.) y su comportamiento temporal en el sur de Chihuahua, México. Revista Mexicana de Fitopatología 19: 49-56.

HAUSBECK, M. K.; LAMOUR, K. H. 2004. *Phytophthora capsici* on vegetable crops: research progress and management challenges. Plant Disease 88(12): 1292-1303.

HICKMAN, C. J. 1970. Biology of *Phytophthora* zoospores. Phytopathology 60: 1128-1135.

JOVICICH, E.; CANTLIFFE, D. J.; STOFFELLA, P. J. 2004. Fruit yield and quality of greenhouse-grown bell pepper as influenced by density, container and trellis system. HortTechnology. 14(4): 507-513.

KATSURA, K.; MIYASAKI, S. 1960. Leaf penetration by *Phytophthora capsici* Leonian. Scientific Reports of Kyoto Prefecture University of Agriculture 12: 65-70.

KOKALIS-BURELLE, N.; BAUSHER, M. G.; ROSSKOPF, E. N. 2009. Greenhouse evaluation of *Capsicum* rootstock for management of *Meloidogyne incognita* on grafted bell pepper. Nematropica 39: 121-132.

KING, S. R.; DAVIS, A. D.; LIU, W.; LEVI, A. 2008. Grafting for disease resistance. HortScience 43(6): 1673-1676.

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.

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

OELKE, L. M.; BOSLAND, P. W.; STEINER, R. 2003. Differentiation of race specific resistance to *Phytophthora* root rot and foliar blight in *Capsicum annuum*. Journal of the American Society for Horticultural Science 128: 213-218.

PALOMO-RODRÍGUEZ, M.; LUJAN-FAVELA, M.; AVILA-QUEZADA, G.; BERZOZA-MARTÍNEZ, M. 2003. Enfermedades radicales del cultivo de chile (*Capsicum annuum*) y medidas de control. Fundación Produce Chihuahua-SAGARPA-INIFAP. Publicación especial. No. 11. 121 pp.

RISTAINO, J. B. 1990. Intraspecific variation among isolates of *Phytophthora capsici* from pepper and cucurbit fields in North Carolina. Phytopathology 80: 1253-1259.

RISTAINO, J. B. 1991. Influence of rainfall, drip irrigation, and inoculum density on the development of *Phytophthora* root and crown rot epidemics and yield in bell pepper. Phytopathology 81: 922-929.

RISTAINO, J. B.; JOHNSTON, S. A. 1999. Ecologically based approaches to management of *phytophthora* blight of bell pepper. Plant Disease 83: 1080-1089.

RESENDIZ-MELGAR, R. C.; MORENO-PÉREZ, E. C.; SÁNCHEZ-DEL CASTILLO, F.; RODRÍGUEZ-PÉREZ, J. E.; PEÑA-LOMELÍ, A. 2010. Variedades de pimiento morrón manejadas con despunte temprano en dos densidades de población. Revista Chapingo Serie Horticultura 16(3): 223-229.

ROS, C.; GUERRERO, M. M.; MARTINEZ, M. A.; BARCELO, N.; MARTINEZ, M. C.; RODRIGUEZ, I.; LACASA, A.; GUIRAO, P.; BELLO, A. 2005. Resistant sweet

pepper rootstocks integrated into the management of soilborne pathogens in greenhouse. *Acta Horticulturae* 698: 305-310.

SAS Institute. 1999. SAS/STAT. User's Guide. Version 8, Vol. 1-5. SAS Publishing. Cary, N.C. 8848 p.

SANTOS, H. S.; GOTO, R. 2004. Enxertia em plantas de pimentão no controle da murcha de fitóftora em ambiente protegido. *Horticultura Brasileira* 22(1): 45-49.

SARATH-BABU, B.; PANDRAVA, S. R.; PRASADA-RAO, R. D. V. J., ANITHA, K.; CHAKRABARLY, S. K.; VARAPRASAD, K. S. 2011. Global sources of pepper genetic resources against arthropods, nematodes and pathogens. *Crop Protection* 30(4): 389-400.

SATOUR, M. M.; BUTLER, E. E. 1968. Comparative morphological and physiological studies of the progenies from intraspecific matings of *Phytophthora capsici*. *Phytopathology* 58: 183-192.

SY, O.; STEINER, R.; BOSLAND, P. W. 2008. Recombinant inbred line differential identifies race-specific resistance to *Phytophthora* root rot in *Capsicum annuum*. *Phytopathology* 98: 867-870.

VELÁSQUEZ-VALLE, R.; MEDINA-AGUILAR, M. M.; LUNA-RUIZ, J. J. 2001. Symptomatology and genera of pathogens associated with pepper (*Capsicum annuum* L.) root rots in North-Central Mexico. *Revista Mexicana de Fitopatología* 19(2): 175-181.

VILLA-LUNA, E.; REYES-TREJO, B.; ROJAS-MARTÍNEZ, R. I.; GÓMEZ-RODRÍGUEZ, O.; HERNÁNDEZ-ANGUIANO, A. M.; ZAVALETA-MEJÍA, E. 2009. Respuesta hipersensitiva en el follaje de CM-334 resistente a *Phytophthora capsici* infectado con *Nacobbus aberrans*. *Nematropica* 39: 143-155.

WATERHOUSE, G. M. 1970. Taxonomy of *Phytophthora*. *Phytopathology* 60: 1141-1143.

WYENANDT, C. A.; KLINE, W. L. 2006. Evaluation of skin separation (silvering) in fruit of bell pepper cultivars. *HortScience* 40: 494.

7. LITERATURA CITADA GENERAL

ANAYA-LÓPEZ, J. L.; GONZÁLEZ-CHAVIRA, M. M.; VILLORDO-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.

CANDOLE, B. L.; CONNER, P. J.; JI, P. 2010. Screening *Capsicum annum* accessions for resistance to six isolates of *Phytophthora capsici*. *HortScience* 45(2): 254-259.

GONZÁLEZ-PÉREZ, E.; YAÑEZ-MORALES, M.; SANTIAGO-SANTIAGO, V.; MONTERO-PINEDA, 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, M. A.; LABORDE, J. A. 1980. Current status of pepper breeding for resistance to *Phytophthora capsici* in Mexico. Synop. IVth Mtg. *Capsicum* Working Group of EUCARPIA. Wageningen, The Netherlands. pp. 52-56.

HAUSBECK, M. K.; LAMOUR, K. H. 2004. *Phytophthora capsici* on vegetable crops: research progress and management challenges. *Plant Disease* 88(12): 1292-1303.

KUBOTA, C.; McLURE, M. A.; KOKALIS-BURELLE, N., BAUSHER, M. G., ROSSKOPF, E. N. 2008. Vegetable grafting: history, use, and current technology status in North America. *HortScience* 43(6): 1664-1669.

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.

RISTAINO, J. B.; JOHNSTON, S. A. 1999. Ecologically based approaches to management of phytophthora blight of bell pepper. *Plant Disease* 83: 1080-1089.

RUSSO, V. M. 2012. Peppers: botany, production and uses. CABI. Cambridge, Massachusetts, USA. 279 p.

SIAP. 2010. Un panorama del cultivo del chile. Consultado en línea el 01/febrero/2013. [www.siap.gob.mx]

SICAGRO-SAGARPA. 2012. Exportaciones de chile bell (y otros pimientos) del período 2012. Consultado en línea el 01/febrero/2013.

[http://sicagro.sagarpa.gob.mx/SICAGRO_CONSULTA/infoagroanual.aspx]

8. ANEXO

Cuadro 1. Costos en pesos mexicanos para la producción de 1000 plántulas injertadas de pimiento morrón.

CONCEPTO	CANTIDAD	PRECIO UNITARIO	TOTAL
Semilla Pimiento morrón cv. Cannon (Zeraim Gedera ®, Israel)	1 000	3.69	3 690
Grapa de plástico Charola	1 000	0.50	500
	22 unidades (17 de 60 cavidades + 5 de 200 cavidades)	60	1 320
Navaja	1 unidad	5	5
Sustrato	2 bultos (un bulto de peat moss + un bulto de vermiculita)	400	800
Acido Ascórbico	50 gramos	336	336
Jornales	3	150	450
Nitrofoska	5 kg	30	150
		Costo total	7 251
		Precio unitario por plántula	7.25

Los conceptos no toman en cuenta la infraestructura utilizada como la cámara de curado, bomba, tanque y microaspersores. Tampoco el costo de la semilla del Criollo de Morelos-334 puesto que es un material experimental no comercial.