

# PRODUCCIÓN DE CHILE ANCHO INJERTADO SOBRE CRIOLLO DE MORELOS 334 PARA EL CONTROL DE *Phytophthora capsici*

## PRODUCTION OF ANCHO CHILI GRAFT ON CRIOLLO DE MORELOS 334 FOR THE CONTROL OF *Phytophthora capsici*

Ma. Rocío García-Rodríguez<sup>1</sup>, Elizabeth Chiquito-Almanza<sup>1</sup>, P. Damián Loeza-Lara<sup>2</sup>, Heriberto Godoy-Hernández<sup>3</sup>, Emiliano Villordo Pineda<sup>3</sup>, J. Luis Pons-Hernández<sup>3</sup>, M. Martín González-Chavira<sup>3</sup>, J. Luis Anaya-López<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Instituto Tecnológico de Celaya. Celaya, Guanajuato, México. <sup>2</sup>Universidad de La Ciénega del Estado de Michoacán de Ocampo. Sahuayo, Michoacán, México. <sup>3</sup>Campo Experimental Bajío. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. (jose.luis.al@hotmail.com).

### RESUMEN

*Phytophthora capsici* es un oomiceto que ocasiona pérdidas en la producción de chile (*Capsicum annuum* L.) en el mundo. Actualmente no hay variedades comerciales de chile resistentes a este patógeno y los productos químicos usados para su control promueven el desarrollo de cepas resistentes y daños al ambiente. Por tanto, se usan estrategias como el injerto, que destaca por su inocuidad al ambiente y eficacia para controlar patógenos del suelo. En este estudio se evaluó *in vitro* la resistencia a *P. capsici* de cuatro patrones comerciales de chile y del cultivar tipo serrano Criollo de Morelos 334 (CM334). Se seleccionó CM334 por su baja incidencia de síntomas (1 %). Se evaluó en invernadero la resistencia a *P. capsici* de plantas de chile ancho Rebelde sin injertar e injertadas sobre CM334 y se midieron algunas variables morfológicas, así como la producción de frutos comerciales en presencia y ausencia del patógeno. En relación al efecto del patógeno sobre las plantas injertadas, la interacción con *P. capsici* no afectó el peso de frutos comerciales (FC), pero redujo significativamente el diámetro y área foliar (AF). En ausencia del patógeno las plantas sin injertar tuvieron significativamente mayor altura, peso seco de hojas, AF, peso de FC, y menor índice de cosecha. Sin embargo, todas las plantas de Rebelde sin injertar e inoculadas con *P. capsici* murieron. El rendimiento de frutos comerciales de Rebelde en ausencia de *P. capsici* fue 14 t ha<sup>-1</sup>, mientras que el de Rebelde injertado sobre CM334 fue 11.4 t ha<sup>-1</sup> (p≤0.01). Estas evidencias indican que el uso de CM334 como patrón tiene potencial para la producción de chile en zonas con alta incidencia de *P. capsici*.

**Palabras clave:** injerto, marchitez del chile, patrón, resistencia.

\* Autor responsable ♦ Author for correspondence.

Recibido: Abril, 2009. Aprobado: Agosto, 2010.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 44: 701-709. 2010.

### ABSTRACT

*Phytophthora capsici* is an oomycete that causes losses in the production of chili peppers (*Capsicum annuum* L.) worldwide. There are currently no varieties of chilies resistant to this pathogen and the chemical products used for its control promotes the development of resistant strains and environmental damages. Therefore, strategies like grafting are used, which stands out for its harmlessness to the environment and its efficiency for controlling soil pathogens. The *in vitro* resistance of *P. capsici* from four commercial chili stocks and from the serrano type Criollo de Morelos 334 (CM334), was evaluated in this study. The 334 was chosen due to its low symptom incidence (1 %). In green house the resistance of ungrafted and grafted *P. capsici* chili pepper plants on CM334 was evaluated, and some morphological variables were measured, as well as the production of commercial fruits in the presence and absence of the pathogen. In regard to the effect of the pathogen on the grafted plants, the interaction with *P. capsici* did not affect the weight of commercial fruits (FC), although it did significantly reduce the foliar area (AF) and diameter. In the absence of the pathogen, ungrafted plants were significantly taller, they had greater dry weights of the leaves, AF, FC weight, and a lower harvest index. However, all the ungrafted Rebelde plants inoculated with *P. capsici* died. The yield of commercial fruits of Rebelde in the absence of *P. capsici* was 14 t ha<sup>-1</sup>, whereas that for Rebelde grafted on CM334 was 11.4 t ha<sup>-1</sup> (p≤0.01). This evidence shows that the use of CM334 as a patrón has a potential for the production of chili peppers in areas with high incidence of *P. capsici*.

**Key words:** graft, pepper wilt, stock, resistance.

## INTRODUCCIÓN

En el 2007 la producción mundial de chile (*Capsicum* spp.) fue poco más de 30 millones de t (FAOSTAT, 2008). México aportó 6.8 % del total y se usó 27.5 % de la superficie destinada al cultivo de hortalizas, generando más de \$ 5 000 millones de pesos, que representó 23 % de la producción hortícola nacional (SIACON, 2007).

*Phytophthora capsici* Leonian es el factor limitante más importante para la producción de chile en el mundo. En función de las condiciones ambientales, la virulencia de los aislados y la cantidad de inóculo de *P. capsici* en el suelo, este patógeno puede causar de 25 a 40 % de las pérdidas del cultivo. Una de las estrategias más comunes para controlar este patógeno es utilizar fumigantes y fungicidas; sin embargo, su uso indiscriminado ha ocasionado el desarrollo de aislamientos resistentes, problemas de contaminación ambiental y de salud pública. Esto ha causado la prohibición de algunos de los productos más usados para controlar *P. capsici*, como el bromuro de metilo.

Entre los métodos alternativos para controlar *P. capsici* destaca el injerto sobre patrones resistentes (Santos y Goto, 2004), cuyo uso ha aumentado debido a su eficacia e inocuidad para el ambiente. En Corea se injertaron cerca de 6 millones de plantas de chile para controlar este patógeno (Lee y Oda, 2003).

El chile tipo serrano Criollo de Morelos 334 (CM334) es una de las más eficaces fuentes de resistencia genética a *P. capsici*. Sin embargo, aunque la resistencia a *P. capsici* es de carácter dominante (Egea-Gilabert *et al.*, 2008), su herencia es compleja debido a su naturaleza poligénica y a la probable existencia de efectos epistáticos (Minamiyama *et al.*, 2007). Por ello no se han generado cultivares de chile comerciales con una adecuada resistencia a este patógeno. En este sentido, el injerto es una alternativa que permite usar variedades resistentes a *P. capsici* para la producción de chile, eludiendo la dificultad de incorporar genéticamente esta característica a las variedades productivas.

Según Fernandez-Pavia y Liddell (1998), la resistencia de CM334 es independiente de la variedad injertada y este cultivar se podría usar como patrón. Sin embargo, para considerar el uso de un patrón, es imprescindible determinar, además de la resistencia y la compatibilidad, el rendimiento de frutos comerciales, una característica aún no evaluada en la

## INTRODUCTION

In 2007, world chili pepper (*Capsicum* spp.) production was of over 30 million t (FAOSTAT, 2008). México contributed 6.8 % of the total and used 27.5 % of the surface destined to the growth of vegetables, creating an income of over 5 billion pesos, which accounted for 23 % of the country's vegetable production (SIACON, 2007).

*Phytophthora capsici* Leonian is the world's most important limiting factor for the production of chili. According to weather conditions, the virulence of the isolates and the amount of *P. capsici* inoculant in the soil, this pathogen can cause 25 to 40 % of loss in chili plantations. One of the most common strategies for controlling this pathogen is to use sprays and fungicides; however, the indiscriminate use of these has brought about the development of resistant isolations, environmental pollution and public health problems. This has led to the prohibition of some of the most commonly used products for controlling *P. capsici*, such as bromomethane.

Alternative methods that stand out for controlling *P. capsici* include grafting on resistant stocks (Santos and Goto, 2004), which has been increasingly used due to its efficiency and environmental harmlessness. In Korea, nearly 6 million chili plants were grafted to control this pathogen (Lee and Oda, 2003).

The serrano Criollo de Morelos 334 (CM334) type chili pepper is one of the most efficient sources of genetic resistance to *P. capsici*. However, although the resistance to *P. capsici* is dominant (Egea-Gilabert *et al.*, 2008), its inheritance is complex, due to its polygenic nature and the likely existence of epistatic effects (Minamiyama *et al.*, 2007). This explains why there have been no commercial chili plantations with an adequate resistance to this pathogen. In this sense, grafting is an alternative that permits the use of *P. capsici* resistant varieties for the production of chili, eluding the difficulty of genetically incorporating this characteristic to the productive varieties.

According to Fernandez-Pavia and Liddell (1998), the resistance of CM334 does not rely on the grafted variety, and this cultivation could be used as a patrón. However, in order to consider the use of a stock, it is crucial to consider resistance and compatibility, but also the yield of commercial fruits, a characteristic that has not been yet evaluated in most investigations. Therefore, the aim of this

mayoría de las investigaciones. Por tanto, el objetivo del presente estudio fue determinar la resistencia a *P. capsici* y el rendimiento de plantas de chile ancho injertadas sobre patrones de CM334.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Material vegetal

Se evaluaron cinco genotipos de chile tolerantes a *P. capsici*: los híbridos de pimiento Tesor (Nunhems), Atlante, AR-96030, AR-96058 (Ramiro Arnedo) y Criollo de Morelos 334 (Redondo, 1979). La variedad a injertar fue el híbrido Rebelde (Semini) de tipo ancho susceptible a *P. capsici*, el cual se usó como testigo sin injertar en la evaluación de resistencia en invernadero. El híbrido de pimiento Triple Star (Enza Zaden) se usó como testigo susceptible en las evaluaciones de resistencia *in vitro* para la selección del patrón.

### Material fúngico

Se usó el aislado de *P. capsici* C7P8F7 identificado mediante PCR con iniciadores específicos (Zhang *et al.*, 2006). Este patógeno fue aislado en Dolores Hidalgo, estado de Guanajuato, México, y presentó la mayor virulencia ente 32 aislados monozoosporicos obtenidos en un estudio realizado por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) sobre la variabilidad genética de *P. capsici* en Guanajuato. El aislado se mantuvo y se propagó en medio de cultivo papa dextrosa al 1.5 % de agar (PDA; Difco) a 25 °C.

### Selección *in vitro* del patrón resistente a *P. capsici*

La evaluación *in vitro* de la resistencia se realizó en una cámara de crecimiento (Lab-Line modelo 844) a 23 °C, 74 % de humedad relativa y un fotoperíodo de 16 h luz. Se usaron plantas de cuatro hojas verdaderas germinadas en condiciones estériles sobre agar-agua (AA) al 1.5 %, y crecidas en vermiculita esterilizada en autoclave 2 d consecutivos a 121 °C por 30 min. Las plantas se inocularon de acuerdo al modelo de interacción propuesto por Muñoz y Bailey (1998). Se usó la escala de daño reportada por Bosland y Lindsey (1991) y se determinó la incidencia (Wolcan *et al.*, 2001) y severidad de los síntomas (Towsend y Heuberguer, 1943). Las evaluaciones se realizaron cada 24 h después de la inoculación (DI), hasta que las plántulas tuvieron una incidencia de 100 % o murieron. El genotipo de chile con menor incidencia y severidad de síntomas a 168 h DI fue seleccionado como patrón resistente a *P. capsici*.

investigation was to determine the resistance to *P. capsici* and the yield of ancho chili plants grafted on CM334 stock.

## MATERIALS AND METHODS

### Plant material

Five genotypes of *P. capsici* resistant chilies were evaluated: the hybrids of Tesor peppers (Nunhems), Atlante, AR-96030, AR-96058 (Ramiro Arnedo) and Criollo de Morelos 334 (Redondo, 1979). The variety to be grafted was the hybrid Rebelde (Semini) susceptible to *P. capsici*, which was used as an ungrafted control in the greenhouse resistance evaluation. The Triple Star (Enza Zaden) pepper hybrid was used as a susceptible control in the *in vitro* resistance evaluations for the selection of the stock.

### Fungus material

The *P. capsici* C7P8F7 isolate was used, identified by PCR with specific initiators (Zhang *et al.*, 2006). This pathogen was isolated in Dolores Hidalgo, in the state of Guanajuato, México, and it displayed the greatest virulence out of 32 monozoosporic isolates obtained in a study carried out by National Forestry, Agricultural and Cattle Research Institute (INIFAP), on the genetic variability of *P. capsici* in Guanajuato. The isolate was maintained and spread in a 1.5 % Potato Dextrose Agar (PDA; Difco) at 25 °C.

### *In vitro* selection of the patrón resistant to *P. capsici*

The *in vitro* evaluation of the resistance was carried out in a growth chamber (Lab-Line model 844) at 23 °C, 74 % relative humidity and a photoperiod of 16 h light. True four-leaved plants were germinated under sterile conditions under agar-water (AA) at 1.5 %, and grown in sterilized vermiculite in an autoclave for 2 consecutive days at 121 °C for 30 min. Plants were inoculated according to the model of interaction reported by Muñoz and Bailey (1998). The damage scale proposed by Bosland and Lindsey (1991) was used and the incidence was determined (Wolcan *et al.*, 2001) along with the severity of the symptoms (Towsend and Heuberguer, 1943). Evaluations were carried out every 24 h after inoculation (DI), until plants had an incidence of 100 % or died. The chili genotype with the least incidence and severity of symptom after 168 h DI was chosen as the resistant stock to *P. capsici*.

### Preparación del inóculo de *P. capsici*

La resistencia de las plantas injertadas se evaluó en invernadero mediante inoculación con micelio del aislado C7P8F7 cultivado en vermiculita (Ezziyyani *et al.*, 2004). La cantidad de inóculo se determinó contando las zoosporas  $\text{mL}^{-1}$  de *P. capsici* por g de vermiculita que crecieron en cajas de petri con PDA incubadas por 3 d a 25 °C.

### Experimentos en invernadero

Los dos experimentos se realizaron de enero a mayo de 2008 en los invernaderos del INIFAP Campo Experimental Bajío, Celaya, estado de Guanajuato (20° 34' N, 100° 49' O, 1650 m de altura). En el invernadero el promedio de temperatura fue 20.2 °C y de humedad relativa 56.7 %.

El injerto se realizó de acuerdo a Lee y Oda (2003). El prendimiento se determinó como el porcentaje de plantas sobrevivientes y vigorosas 20 d después del injerto. Las plantas injertadas se trasplantaron a bancales (5.6  $\text{m}^2 \times 20$  cm de profundidad) con una densidad de plantación de 4.4 plantas  $\text{m}^{-2}$ . El sustrato se fumigó con 75  $\text{g m}^{-2}$  de bromuro de metilo. Su textura fue franca arcillosa (29 % arena, 35 % limo, 36 % arcilla) con una densidad aparente de 1.31  $\text{g cm}^{-3}$ . El diseño experimental fue completamente al azar con grupos de 20 plantas y tres repeticiones.

En el primer experimento se evaluó el efecto del patrón en las variables morfológicas y la producción, comparando plantas sin injertar e injertadas sobre CM334. En el segundo experimento se evaluó el efecto de *P. capsici* en las variables morfológicas y la producción de las plantas injertadas, comparando plantas injertadas inoculadas o no con *P. capsici* a 2 cm de profundidad en la base del tallo con  $77.64 \times 10^7$  zoosporas  $\text{mL}^{-1}$  de *P. capsici*. Se usó un sistema de fertirriego a 0.10 MPa de presión con cintilla calibre 8000; los goteros fueron de 0.5  $\text{L h}^{-1}$  con separaciones de 20 cm. La tensión de humedad promedio en el suelo fue -18 kPa a 15 cm de profundidad. La fertilización se realizó de acuerdo con los requerimientos nutrimentales del chile ancho (Castellanos *et al.*, 2004).

### Variables evaluadas

Se realizaron cortes de frutos 128, 132 y 142 d después del trasplante (DDT). Después del tercer corte se midió el diámetro de tallo (D) a 1 cm encima del sitio de unión del injerto y se cortaron las plantas a ras del suelo. Se midió la altura (A) y el área foliar (AF) de cada planta con un integrador de área LI-3100 (LICOR, Lincoln, NE). Como variables de producción se midió por planta el peso y número de frutos totales (FT) y comerciales (FC); los frutos comerciales se clasificaron de acuerdo

### *P. capsici* inóculo preparation

Resistance of grafted plants was evaluated in a greenhouse by inoculation with mycelia from the isolated C7P8F7 grown in vermiculite (Ezziyyani *et al.*, 2004). The amount of inóculo was determined by counting the zoospores  $\text{mL}^{-1}$  of *P. capsici* per g of vermiculite that grew in petri dishes with PDA incubated for 3 d at 25 °C.

### Greenhouse experiments

Both experiments were carried out between January and May 2008 in the greenhouses of INIFAP, Bajío Experimental Center, in Celaya, state of Guanajuato (20° 34' N, 100° 49' O and 1650 m). In the greenhouse the average temperature was 20.2 °C and 56.7 % of relative humidity.

Plants were grafted according to Lee and Oda (2003). Rooting was established as the percentage of vigorous and surviving plants 20 d after grafting. Grafted plants were transplanted to terraces (5.6  $\text{m}^2 \times 20$  cm deep) with a plant density of 4.4 plants  $\text{m}^{-2}$ . The substrate was sprayed with 75  $\text{g m}^{-2}$  de bromomethane. Its texture was loamy clay (29 % sand, 35 % lime, 36 % clay) with and apparent density of 1.31  $\text{g cm}^{-3}$ . The experimental design was completely randomized with groups of 20 plants and three repetitions.

The first experiment evaluated the effect of the stock on the variables and the production, comparing grafted and ungrafted plants with CM334. The second experiment evaluated the effect of *P. capsici* on morphological variables and production of grafted plants, comparing grafted plants with or without inoculation with *P. capsici* at a depth of 2 cm at the base of the stem with  $77.64 \times 10^7$  zoospores  $\text{mL}^{-1}$  of *P. capsici*. A system of fertirrigation was used, at a pressure of 0.10 MPa with an 8000 slip gauge; the droppers were 0.5  $\text{L h}^{-1}$  with 20 cm separations. The average humidity tension in the soil was -18 kPa at a depth of 15 cm. Fertilization was carried out according to the nutritional requirements of the ancho chili pepper (Castellanos *et al.*, 2004).

### Variables evaluated

Fruits were cut 128, 132 and 142 d after the transplantation (DDT). After the third cut, the stem diameter (D) was measured, 1 cm above the grafting join, and the plants were cut at ground level. Plant height (A) and leaf area (AF) was measured with a leaf area integrator LI-3100 (LICOR, Lincoln, NE). As production variables the weight and number of total (FT) and commercial fruits (FC) per plant was measured; the commercial fruits were classified according to the Mexican standard NMX-

con la norma mexicana NMX-FF-025-SCFI-2007. El índice de cosecha (IC) se calculó como la relación del peso seco de frutos totales (PSF) entre el peso seco total de la planta (PSt), determinado como la suma del peso seco de hojas (PSH), tallos (PST) y frutos (PSF).

### Análisis estadístico

El análisis de discriminación por pasos con el método Stepwise (valor de entrada y salida de  $p=0.05$ ) y el de varianza, así como la comparación entre las medias de los tratamientos con la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ), se realizó con SAS (SAS Institute, 2004). Los valores en porcentaje de incidencia y severidad fueron transformados con la fórmula:  $Y = \arcsen(x/100)^{1/2}$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Selección *in vitro* del patrón

En la evaluación de resistencia *in vitro* los patrones Tresaor, Atlante, AR96030 y AR96058 mostraron una incidencia y severidad de síntomas similar a los testigos susceptibles Rebelde y Triple Star (Cuadro 1), mientras que CM334 fue altamente resistente, con una incidencia de 1 % a 168 h DI con *P. capsici*. Este resultado fue consistente con reportes de la resistencia de CM334 a este patógeno (Ares *et al.*, 2005; Egea-Gilabert *et al.*, 2008). En contraste, los híbridos comerciales mostraron síntomas a las 72 h DI (datos no mostrados). Es importante destacar que la evaluación *in vitro* fue diseñada para favorecer el proceso de infección de *P. capsici*, y aunque no refleja la interacción natural entre las plantas y el patógeno,

**Cuadro 1. Incidencia (I) y severidad de síntomas (SS) de genotipos de chile inoculados *in vitro* con el aislamiento C7P8F7 de *P. capsici*.**

**Table 1. Incidence (I) and severity of symptoms (SS) of genotypes of chilies inoculados *in vitro* with isolation C7P8F7 of *P. capsici*.**

Genotipo	I <sup>†</sup> (%)	SS <sup>‡</sup>	Genotipo	I <sup>†</sup> (%)	SS <sup>‡</sup>
CM334	1 a <sup>§</sup>	0 a	AR96058	100 b	5.1 bc
Tresaor	100 b	3.8 b	Rebelde	99 b	5.9 cd
AR96030	100 b	4.8 bc	Triple Star	100 b	6.6 d
Atlante	100 b	4.6 bc			

<sup>†</sup>Media de ocho individuos con tres repeticiones; <sup>‡</sup>Medias con distinta letra en una columna son diferentes ( $p \leq 0.05$ ) ♦ <sup>§</sup>Means of eight individuals with tree replications; <sup>§</sup>Means with a different letter in a column are different ( $p \leq 0.05$ ).

FF-025-SCFI-2007. The harvest index (IC) was calculated as the relation of the dry weight of total fruits (PSF), divided by the total dry weight of the plant (PSt), obtained as the sum of the dry weight of the leaves (PSH), stems (PST) and fruits (PSF).

### Statistical analysis

The discrimination analysis by steps using the Stepwise method (input and output value  $p=0.05$ ) and the analysis of variance, as well as the mean comparison with the Tukey test ( $p \leq 0.05$ ) were carried out using SAS (SAS Institute, 2004). The values in the percentage of incidence and severity were transformed with the formula:  $Y = \arcsen(x/100)^{1/2}$ .

## RESULTS AND DISCUSSION

### *In vitro* selection of the pattern

In the evaluation of resistance *in vitro*, the stocks Tresaor, Atlante, AR96030 and AR96058 showed an incidence and severity of symptoms, similar to those of the susceptible witnesses Rebelde and Triple Star (Cuadro 1), while CM334 was highly resistant, with an incidence of 1 % at 168 h DI with *P. capsici*. This result was consistent with reports on the resistance of CM334 to this pathogen (Ares *et al.*, 2005; Egea-Gilabert *et al.*, 2008). In contrast, the commercial hybrids showed symptoms at 72 h DI (data not showed). It is important to emphasize that the evaluation *in vitro* was designed to favor the process of infection of *P. capsici*, and although it does not reflect the natural interaction between plants and the pathogen, it helped to quickly select the highly resistant genotype.

### Effect of the Rebelde graft with CM334

According to the Stepwise analysis, the variables that best described the differences between ungrafted plants and plants grafted on CM334 were PSH, D, and A, while D, PST, and AF described the effect of *P. capsici* on grafted plants (Table 2).

In grafted plants, D was significantly higher than in ungrafted plants, although in PSH and A the opposite occurred (Table 3). Stem diameter is an indicator of physiological changes due to cellular interactions between the two genotypes (Kokalis-Burelle *et al.*, 2009); however, the changes in the diameter depends on the genotype and does not

permitió seleccionar rápidamente al genotipo altamente resistente.

### Efecto del injerto de Rebelde con CM334

De acuerdo con el análisis de Stepwise, las variables que describieron mejor las diferencias entre las plantas sin injertar e injertadas sobre CM334 fueron PSH, D, y A, mientras que el D, PST, y AF describieron el efecto de *P. capsici* sobre las plantas injertadas (Cuadro 2).

En las plantas injertadas D fue significativamente mayor que el de las plantas sin injertar, pero en PSH y A sucedió lo contrario (Cuadro 3). El diámetro del tallo es un indicativo de cambios fisiológicos debido a las interacciones celulares entre dos genotipos (Kokalis-Burelle *et al.*, 2009); sin embargo, los cambios en el diámetro dependen del genotipo y no siempre se correlaciona con una disminución en la producción (Cürük *et al.*, 2009; Kokalis-Burelle *et al.*, 2009).

La reducción en A y PSH pudo deberse a una compatibilidad parcial entre Rebelde y el sistema radicular de CM334, lo que modificó la absorción de nutrimentos, reguladores de crecimiento y agua de las plantas injertadas como ha ocurrido con berenjena (*Solanum melogena* L.) y jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) (Leonardi y Giuffrida, 2006; Oda *et al.*, 2005). Sin embargo, en Chile se ha estudiado poco, por lo que se deberán evaluar los efectos de la absorción de nutrientes y la compatibilidad vascular en este cultivo. Estas evidencias sugieren que el uso de CM334 como patrón redujo significativamente el vigor, un fenómeno común en el injerto de hortalizas que representa uno de los mayores problemas al injertar pimiento (Miguel, 1997; Santos y Goto, 2004).

Las variables PSH, D y A describieron mejor las diferencias entre las plantas injertadas y sin injertar de acuerdo con el método Stepwise. La comparación de medias del número y peso de FT y FC, IC, AF y PST se incluyó porque describen el fenómeno de producción y hubo diferencias significativas entre los tratamientos.

El número y peso de FT y FC de las plantas sin injertar fue significativamente mayor que el de las plantas injertadas (Cuadro 4). Sin embargo, casi el 90 % del peso de FT de las plantas injertadas correspondió a FC, lo cual sugiere que se translocó mayor cantidad de fotoasimilados para la formación de frutos. Por tanto,

### Cuadro 2. Selección de variables significativas que expresan diferencias entre los tratamientos.

Table 2. Selection of significant variables that express differences between treatments.

Modelo	Variable	R <sup>2</sup> parcial	F	ASCC
1	PSH <sup>†</sup>	0.816	523.05 <sup>§</sup>	0.816 <sup>§</sup>
2	D <sup>†</sup>	0.444	93.37 <sup>§</sup>	0.898 <sup>§</sup>
3	A <sup>†</sup>	0.067	8.35 <sup>§</sup>	0.904 <sup>§</sup>
1	D <sup>‡</sup>	0.818	521.39 <sup>§</sup>	0.818 <sup>§</sup>
2	PST <sup>‡</sup>	0.062	7.54 <sup>§</sup>	0.829 <sup>§</sup>
3	AF <sup>‡</sup>	0.046	5.48 <sup>§</sup>	0.837 <sup>§</sup>

PSH: peso seco de hojas; D: diámetro; A: altura; PST: peso seco de tallo; AF: área foliar; ASCC: correlación canónica cuadrada de la media ♦ PSH: leaf dry weight; D: diameter; A: height; PST: stem dry weight; AF: leaf area; ASEC: mean square canonical correlation.

<sup>†</sup>Variables correspondientes al efecto del injerto, y <sup>‡</sup>al inóculo ♦ Variables correspondign to graft, and <sup>‡</sup>inoculum.

<sup>§</sup>p≤0.01; <sup>§</sup>p≤0.05.

### Cuadro 3. Efecto del injerto con CM334 en el peso seco de hoja (PSH), diámetro de tallo (D) y altura (A) de plantas de Chile ancho Rebelde.

Table 3. Effect of the graft with CM334 in the dry weight of the leaf (PSH), stem diameter (D) and height (A) of Rebelde ancho chili pepper plants.

Injerto/patrón	PSH <sup>†</sup> (g)	D <sup>†</sup> (cm)	A <sup>†</sup> (m)
Rebelde	34.08 a	1.12 b	1.44 a
Rebelde/CM334	12.50 b	1.77 a	1.07 b

<sup>†</sup>Media de 20 individuos con tres repeticiones. ab: Medias con distinta letra en una columna son diferentes (p≤0.05) ♦ Mean of 20 individuals with three replications. ab: Mean with different letter in a column are different (p≤0.05).

always correlate to a drop in production (Cürük *et al.*, 2009; Kokalis-Burelle *et al.*, 2009).

The reduction in A and PSH could be due to a partial compatibility between Rebelde and the radicular system of CM334, which modified the absorption of nutrients, growth regulators and water of grafted plants, as with the eggplant (*Solanum melogena* L.) and tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) grafts (Leonardi y Giuffrida, 2006; Oda *et al.*, 2005). Nevertheless, in chili peppers, this has had little study; hence the effects of nutrient absorption and vascular compatibility must be studied for this crop. This evidence suggests that the use of CM334 as a stock reduced vigor significantly, which is

considerando sólo el peso de FC, el rendimiento de Rebelde sin *P. capsici* fue 14 t ha<sup>-1</sup>, en comparación con 11.4 t ha<sup>-1</sup> (p≤0.01) producido por las plantas injertadas. El IC de las plantas injertadas fue similar al obtenido en pimiento (Jaimez, 2000) y jalapeño (Azofeifa y Moreira, 2004), y significativamente mayor que el IC de las plantas sin injertar, lo cual se debió a que las plantas injertadas tuvieron menos PSt (Cuadro 4).

Esto fue consistente con lo encontrado en Chile (*C. annuum*) en donde la reducción del peso seco total incrementó el índice de cosecha (González-Real *et al.*, 2008). En conjunto, estas evidencias sugieren que el uso de CM334 como patrón disminuyó el vigor y la capacidad de la planta para producir fotoasimilados, disminuyendo la producción.

### Efecto de *P. capsici* en el rendimiento de Rebelde injertado

Las plantas de Rebelde sin injertar no se pudieron usar como testigo ya que murieron aproximadamente 15 d DI (datos no mostrados). En contraste, todas las plantas de Rebelde injertadas sobre CM334 sobrevivieron y completaron su ciclo, lo cual reflejó el nivel de resistencia de CM334 a *P. capsici*.

La interacción de *P. capsici* con las plantas injertadas disminuyó el D y AF (Cuadro 5). La reducción del diámetro en la interacción entre plantas de Chile injertadas y patógenos ha sido reportada en patrones tolerantes a *Meloidogyne incognita* (Kokalis-Burelle *et al.*, 2009); sin embargo, se desconoce el motivo de este fenómeno. La interacción de *P. capsici* con las plantas injertadas no afectó la producción comercial, ya que en comparación con las plantas injertadas sin *P. capsici* no hubo diferencias significativas en las variables de producción.

common in the grafts of vegetables, and one of the most important problems when grafting peppers (Miguel, 1997; Santos y Goto, 2004).

Variables PSH, D and A better described the differences between grafted and non grafted plants, according to the Stepwise method. The mean comparison for number and weight of FT and FC, IC, AF and PSt was included because they describe the production phenomenon and there were significant differences between treatments.

The number and weight of FT and FC of the ungrafted plants was significantly higher than that of grafted plants (Table 4). However, nearly 90 % of the FT weight was FC, which suggests that a greater amount of photoassimilates were translocated for the formation of fruits. Therefore, considering only the weight of FC, the yield of Rebelde without *P. capsici* was 14 t ha<sup>-1</sup>, in comparison to the 11.4 t ha<sup>-1</sup> (p≤0.01) produced by the grafted plants. The IC of the plants was similar to that obtained in peppers (Jaimez, 2000) and jalapeños (Azofeifa and Moreira, 2004), and significantly greater than the IC of ungrafted plants, which was due to the grafted plants having a lower PSt (Table 4).

This was consistent with the findings for chili (*C. annuum*) in which the reduction in dry weight increased the harvest index (González-Real *et al.*, 2008). Altogether, this evidence suggests that the use of CM334 as a stock reduced the vigor and the capacity of the plant to produce photoassimilates, reducing production.

### Effect of *P. capsici* on the yield of grafted Rebelde

The ungrafted Rebelde plants could not be used as a control, since they died approximately 15 d DI (data not shown). In contrast, all the Rebelde

**Cuadro 4. Efecto de CM334 en el número y peso de frutos totales (FT) y comerciales (FC), índice de cosecha (IC), área foliar (AF) y peso seco total (PSt) de Rebelde.**

**Table 4. Effect of CM334 on the number and weight of total (FT) and commercial fruits(FC), harvest index (IC), foliar area (AF) and total dry weight (PSt) of Rebelde.**

Injerto/patrón	Número		Peso (kg)		IC <sup>†</sup>	AF <sup>†</sup> (cm <sup>2</sup> )	PSt <sup>†</sup> (g)
	FT <sup>†</sup>	FC <sup>†</sup>	FT <sup>†</sup>	FC <sup>†</sup>			
Rebelde	10.55 a	6.66 a	0.38 a	0.32 a	0.33 b	0.51 a	118.56 a
Rebelde/CM334	7.21 b	4.76 b	0.29 b	0.26 b	0.46 a	0.27 b	57.77 b

<sup>†</sup>Media de 20 individuos con tres repeticiones. ab: medias con distinta letra en una columna son diferentes (p≤0.05) ♦ Mean of 20 individuals with three replications. ab: means with different letter in a column are different (p≤0.05).

Aunque la diferencia en el rendimiento entre las plantas injertadas y sin injertar fue significativa, es importante reiterar que con las condiciones evaluadas ninguna planta sin injertar sobrevivió a la inoculación con *P. capsici*. Además, se detectaron algunos individuos con una interacción más vigorosa que la media de las plantas injertadas (datos no mostrados). Esta variación en el vigor pudo deberse a la heterogeneidad de CM334; en este cultivar hay variación en la pungencia de los frutos y en la resistencia al virus PYV (Pasko *et al.*, 1992; Gil *et al.*, 2003), lo que abre la posibilidad de identificar individuos de CM334 con una interacción vigorosa similar a la de las plantas sin injertar. Sin embargo, será necesario seleccionar individuos con mayor vigor para aumentar el rendimiento y determinar los requerimientos nutricionales de las plantas injertadas sobre estos patrones.

## CONCLUSIONES

La baja incidencia y severidad de síntomas de CM334 en las evaluaciones de resistencia *in vitro* indicaron que CM334 fue el único genotipo resistente a *P. capsici*. El uso de CM334 como patrón disminuyó significativamente el vigor y el rendimiento de FC. Sin embargo, fue altamente eficaz para proteger al chile ancho Rebelde del ataque de *P. capsici* ya que todas las plantas sin injertar murieron al ser inoculadas. La interacción con el patógeno no afectó la producción de frutos comerciales en las plantas injertadas. Este estudio confirma que el uso de CM334 como patrón tiene potencial para la producción de chile en condiciones de infestación por *P. capsici*.

## AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Consejo de Ciencia y Tecnología del estado de Guanajuato (CONCYTEG) por el apoyo financiero al proyecto número 07-24-K662-064 y la beca de licenciatura número de convenio 08-24-K119-053, y al Dr. Carlos Alberto Núñez Colín por su valiosa orientación en el análisis estadístico.

## LITERATURA CITADA

- Ares, A., J. L., A. Rivera M., and J. Fernández P. 2005. Resistance of pepper germoplasma to *Phytophthora capsici* isolates collected in northwest Spain. *Span. J. Agric. Res.* 3: 429-436.
- Azofeifa, A., y M. A. Moreira. 2004. Análisis de crecimiento del chile jalapeño (*Capsicum annuum* L. cv. Hot), en Alajuela, Costa Rica. *Agron. Costarricense* 28: 57-67.

**Cuadro 5. Efecto de *P. capsici* en el diámetro de tallo (D), peso seco de tallo (PST) y área foliar (AF) de plantas de chile ancho injertadas.**

**Table 5. Effect of *P. capsici* on the stem diameter (D), stem dry weight (PST) and foliar area (AF) of grafted ancho chili plants.**

Inóculo	D (cm)	PST (g)	AF <sup>†</sup> (cm <sup>2</sup> )
Sin <i>P. capsici</i>	1.77 a	18.30 a	0.27 a
Con <i>P. capsici</i>	1.04 b	18.11 a	0.22 b

<sup>†</sup>Media de 20 individuos con tres repeticiones. ab Medias con distinta letra en una columna son diferentes ( $p \leq 0.05$ ) ♦ Mean of 20 individuals with three replications. ab: Means with different letter in a column are different ( $p \leq 0.05$ ).

plants grafted on CM334 survived and completed their cycle, which indicates the level of resistance of CM334 to *P. capsici*.

The interaction of *P. capsici* with the grafted plants reduced D and AF (Table 5). The reduction in diameter in the interaction between grafted chili plants and the pathogens has been reported in patrones tolerant to *Meloidogyne incognita* (Kokalis-Burelle *et al.*, 2009); however, the reason behind this is unknown. The interaction of *P. capsici* with the grafted plants did not affect commercial production, since there were no significant differences in production variables, in comparison to the plants grafted without *P. capsici*.

Although the difference in yield for grafted and ungrafted plants was significant, it is important to reiterate that with the evaluated conditions, no ungrafted plant survived inoculation with *P. capsici*. Some individuals were found to have a more vigorous interaction than the average grafted plant (data not shown). This variation in vigor could be due to the heterogeneity of CM334; in this cultivar, there is variation in the pungency of the fruits and in the resistance to the PYV virus (Pasko *et al.*, 1992; Gil *et al.*, 2003), which opens the possibility of identifying CM334 individuals with a vigorous interaction, similar to that of ungrafted plants. However, it will become necessary to choose individuals with greater vigor to increase yield and determine the nutritional requirements of the plants grafted on these patrones.

## CONCLUSIONS

The low incidence and severity of CM334 symptoms in the *in vitro* resistance evaluations



- Bosland, P. W., and D. L. Lindsey. 1991. A seedling screen for *Phytophthora* root rot of pepper *Capsicum annuum*. Plant Dis. 75: 1048-1050.
- Castellanos, J. Z., J. X. Uvalle B., y A. Aguilar S. 2004. Manual de Interpretación de Análisis de Suelos y Aguas. 2da Ed. Colección INCAPA. Celaya, Guanajuato. 201 p.
- Cürük, S., H. Y. Dasgan, S. Mansuroglu, S. Kurt, M. Mazmanoglu, O. Antakli, and G. Tarla. 2009. Grafted eggplant yield, quality and growth in infested soil with *Verticillium dahliae* and *Meloidogyne incognita*. Pesq. Agropec. Bras. 44: 1673-1682.
- Egea-Gilabert, C., G. Bilotti, M. E. Requena, M. Ezziyyani, J. M. Vivo Molina, and M. E. Candela. 2008. Pepper morphological traits related with resistance to *Phytophthora capsici*. Biol. Plantarum 52: 105-109.
- Ezziyyani, M., C. Pérez S., M. E. Requena, A. Sid A., y M. E. Candela. 2004. Evaluación del biocontrol de *Phytophthora capsici* en pimiento (*Capsicum annuum* L.) por tratamiento con *Burkholderia cepacia*. An. Biol. 26: 61-68.
- FAOSTAT. 2008. Sistema Estadístico de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567 (consultado: abril 2008).
- Fernandez-Pavia, S. P., and C. M. Liddell. 1998. Lack of evidence for translocation of resistance factors between roots and foliage of *Capsicum annuum* infected by *Phytophthora capsici*. Capsicum and Eggplant Newsletter 17: 66-68.
- Gil O., R., M. S. Arnedo A., M. L. Arteaga, and A. B. Garces C. 2003. 'Serrano criollo de Morelos' a good example of a land variety. Capsicum and Eggplant Newsletter 22: 25-26.
- González-Real, M. M., A. Baille, and H. Q. Liu. 2008. Influence of fruit load on dry matter and N-distribution in sweet pepper plants. Sci. Hortic. 117: 307-315.
- Jaimez R., E. 2000. Crecimiento y distribución de la materia seca en ají dulce bajo condiciones de déficit de agua. Agron. Trop. 50: 189-200.
- Kokalis-Burrelle, N., M. G. Bausher, and E. N. Roskopf. 2009. Greenhouse evaluation of *Capsicum* rootstocks for management of *Meloidogyne incognita* on grafted bell pepper. Nematropica 39: 121-132.
- Lee, J. M., and M. Oda. 2003. Grafting of herbaceous vegetable and ornamental crops. Hort. Rev. 28:61-124.
- Leonardi, C., and F. Giuffrida. 2006. Variations of plant growth and macronutrient uptake in grafted tomatoes and eggplants on three different rootstocks. Eur. J. Hortic. Sci. 71(3): 97-101.
- Miguel G., A. 1997. Injerto de Hortalizas. Generalitat Valencia. Federico Doménech, S. A. Valencia, España. 88 p.
- Minamiyama, Y., M. Turo, T. Kubo, and M. Hirai. 2007. QTL analysis for resistance to *Phytophthora capsici* in pepper using a high density SSR-based map. Breeding Sci. 57: 129-134.
- Muñoz, C. I., and A. M. Bailey. 1998. A cutinase-encoding gene from *Phytophthora capsici* isolated by differential-display RT-PCR. Curr. Genet. 3: 225-230.
- indicated that CM334 was the only genotype resistant to *P. capsici*. The use of CM334 as a patrón significantly reduced the vigor and yield of FC. Nevertheless, it was highly efficient in the protection of Rebelde ancho chili from the attack of *P. capsici*, since all ungrafted plants died when inoculated. The interaction with the pathogen did not affect the production of commercial fruits in the grafted plants. This study confirms that the use of CM334 as a patrón has potential for the production of chili peppers under conditions of infestation by *P. capsici*.

—End of the English version—



- Norma Mexicana NMX-FF-025-SCFI-2007. Productos alimenticios no industrializados para consumo humano-chile fresco (*Capsicum* spp). www.sagarpa.gob.mx/agricultura/info/comp/it/normas/noti/NMX\_FF\_025\_SCFI\_2007\_15102007.pdf (consultado: agosto 2008).
- Oda, M., M. Maruyama, and G. Mori. 2005. Water transfer at graft union of tomato plants grafted onto *Solanum* rootstocks. J. Japan Soc. Hort. Sci. 74: 458-463.
- Pasko, P., M. L. Arteaga, and R. Gil O. 1992. Difference kind of reactions to PVY-1-2 in *Capsicum annuum* L., cv. 'SCM-334'. Capsicum Newsletter, special issue: 153-156.
- Redondo, J. E. 1979. Búsqueda de fenotipos de chile resistentes al hongo *Phytophthora capsici* Leonian. Proc. Trop. Reg. Amer. Soc. Hort. Sci. 23: 220-224.
- Santos, H. A., e R. Goto. 2004. Enxertia em plantas de pimentao no controle da murcha de fitóftora em ambiente protegido. Hort. Bras. 22: 45-49.
- SAS Institute. 2004. SAS/STAT 9.1 User's Guide. SAS Inst., Cary, NC. 5124 p.
- SIACON. Sistema de Información Agroalimentaria de Consulta 1980-2007, SAGARPA, D. F., México. www.siap.sagarpa.gob.mx/ventana.php?idLiga=1560&tipo=0 (consultado: agosto 2008)
- Townsend, G. R., and J. W. Heuberguer. 1943. Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experiments. Plant Dis. Reporter 27: 340-343.
- Wolcan, S. M., G. A. Lori, L. Ronco, A. F. Mitidieri, y R. Fernández. 2001. Enanismo y podredumbre basal de *Eustoma grandiflorum* y su relación con la densidad de *Fusarium solani* en el suelo. Fitopatol. Bras. 26: 710-714.
- Zhang, Z. G., Y. Q. Li, H. Fan, Y. C. Wang, and B. Zheng. 2006. Molecular detection of *Phytophthora capsici* in infected plant tissue, soil and water. Plant Pathol. 55: 770-775.