

# Graft response of *Capsicum chinense-Capsicum annuum* var. *glabriusculum* to Begomovirus in field

## Respuesta del injerto de *Capsicum chinense-Capsicum annuum* var. *glabriusculum* a Begomovirus en campo

Reyna Z. Navarrete-Mapen<sup>1</sup>, Jairo Cristóbal-Alejo<sup>1\*</sup>, Alberto Uc-Vázquez<sup>2</sup>, Arturo Reyes-Ramírez<sup>1</sup>, José M. Tun-Suárez<sup>1</sup>, Carlos Juan Alvarado-López<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Tecnológico Nacional de México, División de Estudios de Posgrado e Investigación, Instituto Tecnológico de Conkal. Avenida Tecnológico S/N, Conkal, Yucatán, México. C.P. 97345. <sup>2</sup>Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, Parque Científico y Tecnológico de Yucatán, Tablaje Catastral 31264 Km 5.5 Carretera, Sierra Papacal-Chuburná Puerto, Yucatán, C.P 97302, México. \*Autor para correspondencia: jairoca54@hotmail.com

Recibido: 11 de Enero, 2020.

Aceptado: 28 de Febrero, 2020.

Navarrete-Mapen RZ, Cristóbal-Alejo J, Uc-Vázquez A, Reyes-Ramírez A, Tun-Suárez JM and Alvarado-López CJ. 2020. Graft response of *Capsicum chinense-Capsicum annuum* var. *glabriusculum* to Begomovirus in field. Mexican Journal of Phytopathology 38(2): 226-238.

DOI: 10.18781/R.MEX.FIT.2001-2

Primera publicación DOI: 13 de Marzo, 2020.

First DOI publication: March 13, 2020.

**Resumen.** Uno de los problemas fitosanitarios en el cultivo de chile es la mosca blanca, transmisor de begomovirus. Ante la necesidad de alternativas, se planteó el objetivo de evaluar la tolerancia de injertos de *Capsicum chinense-Capsicum annuum* var. *glabriusculum* a begomovirus bajo condiciones de campo. Se utilizaron dos materiales criollos para portainjerto (amashito y muela) y chile habanero como injerto (criollo y jaguar). Se empleó la

**Abstract.** One of the phytosanitary problems in the cultivation of pepper is the whitefly, begomovirus transmitter. Given the need for alternatives, the objective was to evaluate graft tolerance of *Capsicum chinense-Capsicum annuum* var. *glabriusculum* to begomovirus under field conditions. Two creole materials were used for rootstock (amashito and muela) and habanero pepper as graft (criollo and jaguar). The “terminal plectrum” graft was used and six treatments were generated. The whitefly populations, the incidence and severity of the disease were recorded every 10 days, with the latter AUDPC were calculated and apparent infection rate  $Y_{final}$ . In the production stage, yield, length and diameter of fruits it was determined. At 130 days after transplantation, the population under whitefly, it was quantified in the grafted treatments (muela + habanero jaguar, amashito + habanero jaguar, muela + habanero criollo y amashito + habanero criollo) that ranged from 5.5 to 14.5 insects per plant. The increased

injertación de “púa terminal” y se generaron seis tratamientos. Se registraron cada 10 días las poblaciones de mosca blanca, la incidencia y severidad de la enfermedad, con esta última se calcularon ABCDE, tasa de infección aparente y  $Y_{final}$ . En etapa de producción, se determinó rendimiento, longitud y diámetro de frutos. A los 130 días después del trasplante, la menor población de mosca blanca, se cuantificó en los tratamientos injertados (muela + habanero jaguar, amashito + habanero jaguar, muela + habanero criollo y amashito + habanero criollo) que osciló entre 5.5 a 14.5 insectos por planta. La mayor incidencia y severidad promedio de virosis fue en habanero jaguar con 100 y 62%. La menor ABCPE, tasa de infección aparente y  $Y_{final}$  se estimaron en muela + habanero criollo con 746.6 (% por día), 0.005 (% por día) y 23.4%, en su orden; asociado con la fortaleza genética del portainjerto. Los injertos amashito + habanero jaguar, amashito + habanero criollo y muela + habanero criollo mostraron mejor comportamiento agronómico y productividad del cultivo.

**Palabras clave:** portainjertos, tolerancia, virosis, mosca blanca, chile.

En México, la producción de chile es afectada por plagas y enfermedades. En los últimos años, la mosca blanca se ha convertido en la principal transmisora de enfermedades inducidas por el género *Begomovirus* y han ocasionado pérdidas de producción de al menos 95% (García *et al.*, 2010). Para el control de esta plaga se implementan diferentes insecticidas; sin embargo, su uso genera contaminación e inducen resistencia en las poblaciones insectiles e inclusive con mayor agresividad (George *et al.*, 2015). Por otro lado, en el cultivo de chile habanero (*Capsicum chinense*) con denominación de origen de la península de Yucatán, se

incidence and severity of virus was average in habanero jaguar with 100 and 62%. The lowest AUDPC, apparent infection rate and  $Y_{final}$  were estimated in muela + habanero criollo with 746.6 (% per day), 0.0050 (% per day) and 23.4%, in their order; associated with the genetic strength of the rootstock. The grafts amashito + habanero jaguar, amashito + habanero criollo y muela + habanero criollo showed better agronomic performance and productivity of the crop.

**Key words:** rootstocks, tolerance, virosis, whitefly, chili pepper.

In Mexico, the production of chili peppers is affected by pests and diseases. In recent years, the whitefly has become the main transmitter of diseases induced by the genus *Begomovirus* and has caused production losses for at least 95% (García *et al.*, 2010). In order to control this pest, different insecticides have been used; however, their use leads to contamination and to resistance in even more aggressive resistance of insect populations (George *et al.*, 2015). On the other hand, in plantations of habanero peppers (*Capsicum chinense*) with denomination of origin of the Yucatan peninsula, there is an interest in implementing technologies based on plant resistance to reduce losses in production caused by virosis from this interaction. A strategy for the management of virosis and to improve the production in this crop is the use of grafted plants, which uses the virtues conferred by the rootstock and those of the graft of commercial interest. Previous investigations in watermelon and tomato plantations showed the efficiency of the use of rootstocks, in which tolerance was conferred to a virus complex such as: *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Watermelon mosaic virus II* (WMV-II), *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV)

tiene el interés de implementar tecnologías basadas en la resistencia vegetal con el fin de reducir pérdidas de producción causadas por virosis de esta interacción. Una estrategia para el manejo de virosis y mejorar la producción en este cultivo, es el uso de plantas injertadas donde se aprovechan las cualidades que confiere el portainjerto y las propias del injerto de interés comercial. Investigaciones previas en cultivos de sandía y jitomate, mostraron la eficacia del uso de portainjertos donde se confirió tolerancia a un complejo de virus como: *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Watermelon mosaic virus II* (WMV-II), *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV) y *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) (Wang *et al.*, 2002); y en este aspecto, la opción de usar portainjertos silvestres tolerantes se presenta como una solución en campo al problema de virosis. El objetivo de este trabajo fue estimar bajo condiciones de campo la tolerancia del injerto de *Capsicum chinense-Capsicum annuum* var. *glabriusculum* a begomovirus.

**Área de estudio y material genético.** El estudio se realizó con un productor cooperante en el estado de Yucatán, México, en una parcela ubicada entre 20° 58' 40" N y 89° 26' 30" W a una altitud de 8 m sobre nivel del mar. Se utilizaron dos variedades como injertos; habanero criollo y habanero jaguar (*C. chinense*), y como portainjertos amashito y muela (*C. annuum* var. *glabriusculum*) colectados en traspatio y selva aledaña.

**Obtención de los injertos.** Para favorecer la germinación de las semillas de los portainjertos, se sumergieron en ácido giberélico a 500 ppm por 24 h, posteriormente se sembraron en charolas de poliestireno de 200 cavidades en Sunshine #3® + Agrolita® en relación 2:1 como sustrato. Ocho días posteriores se sembraron las variedades comerciales de chile habanero utilizadas como injertos. Las

and *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) (Wang *et al.*, 2002). In this regard, the option of using tolerant wild rootstocks is presented as a solution to the problem of virosis in the field. The aim of this investigation was to estimate, under field conditions, the tolerance of the graft of *Capsicum chinense-Capsicum annuum* var. *glabriusculum* to begomovirus.

**Area of study and genetic material.** The study was carried out using a cooperating farmer in the state of Yucatan, Mexico, in a field located between 20° 58' 40" N and 89° 26' 30" W at an altitude of 8 m above sea level. Two varieties were used as grafts: habanero criollo and habanero jaguar (*C. chinense*), and as rootstock, amashito and muela (*C. annuum* var. *glabriusculum*) gathered in backyard orchards and the adjacent wilderness.

**Obtaining grafts.** In order to favor the germination of rootstock seeds, they were submerged in gibberellic acid at 500 ppm for 24 h. Later, they were planted in polystyrene trays with 200 cavities in Sunshine #3® + Agrolita® in a 2:1 ratio as a substrate. Eight days later, the commercial varieties of habanero peppers, used as grafts, were planted. The plants were grafted using the terminal plectrum technique when the stems of the rootstocks and the grafts were 2 mm in length. Grafted plants were kept for 21 days in a humid adaptation chamber at a humidity of 80% and 27 °C. After this time, they remained for 14 days in a tunnel-style greenhouse with 450 lux for their adaptation and growth.

**Establishment of the experiment.** The plantation was established under a system of drip irrigation and with a regional production, a distance of 1.2 m between furrows, and 0.40 m between plants. The soil texture, according to analyses, was clay-loam. The fertilization program consisted of N-N0<sub>3</sub>, 9.29,

plantas se injertaron mediante la técnica de púa terminal, cuando el tallo de los portainjertos y los injertos tuvieron 2 mm de diámetro. Las plantas injertadas se mantuvieron por 21 días en una cámara húmeda de adaptación a 80% de humedad relativa y 27 °C, posteriormente estuvieron por 14 días en un invernadero tipo túnel de 450 luxes para su adaptación y crecimiento.

**Establecimiento del experimento.** El cultivo se estableció bajo un sistema de riego por goteo y de producción regional, con una distancia de 1.2 m entre surcos y 0.40 m entre plantas. La textura del suelo según análisis previo fue franco-arcillosa. El programa de fertilización consistió: N-NO<sub>3</sub>, 9.29, N-NH<sub>4</sub>, 1.33, P-PO<sub>4</sub>, 1.42, K, 4.85, Ca, 4.32, Mg, 1.68, S-SO<sub>4</sub>, 2.56, Na<sup>+</sup>, 0.19, Cl<sup>-</sup>, 0.13 y HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, 0.01 meq L<sup>-1</sup>, respectivamente; con modificaciones según los requerimientos del cultivo. Se implementó un diseño experimental de bloques completos al azar, se establecieron seis tratamientos con cuatro repeticiones: amashito + habanero criollo, amashito + habanero jaguar, muela + habanero criollo, muela + habanero jaguar y como testigos habanero criollo y habanero jaguar. Cada repetición constó de 30 plantas. El ciclo de producción fue de primavera-verano (12 de febrero a 25 de agosto de 2018) y sin la aplicación de plaguicidas.

**Fluctuación poblacional de mosca blanca.** Con el propósito de asociar la presencia de begomovirus con el vector, a partir del primer día del trasplante y hasta el final del ciclo del cultivo, se realizaron monitoreos de 10 plantas por repetición cada 10 días con la ayuda de un visor de monitoreo el cual consiste en un bote cilíndrico de 40 L, abierto por los extremos y con un orificio a un costado, uno de los extremos se tapa con polietileno transparente y el otro se coloca encima de la planta; por el orificio se sacude la planta con una varilla de madera y

N-NH<sub>4</sub>, 1.33, P-PO<sub>4</sub>, 1.42, K, 4.85, Ca, 4.32, Mg, 1.68, S-SO<sub>4</sub>, 2.56, Na<sup>+</sup>, 0.19, Cl<sup>-</sup>, 0.13 and HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, 0.01 meq L<sup>-1</sup>, respectively; with modifications according to crop requirements. A complete random block design was implemented; six treatments were established with four repetitions: amashito + habanero criollo, amashito + habanero jaguar, muela + habanero criollo, muela + habanero jaguar, and as controls habanero criollo and habanero jaguar. Each repetition consisted of 30 plants. The production cycle was spring-summer (February 12 to August 25, 2018) and without the use of pesticides.

**Fluctuation of whitefly population.** In order to associate the presence of begomovirus with the vector, starting on the first day of transplant, and until the end of the planting cycle, 10 plants were monitored for each repetition every 10 days, using a monitoring visor, which consists of a cylindrical 40 L bucket, open on both ends and with a hole on one side. One of the ends is covered with transparent polyethylene and the other end is placed over the plant; through the hole, the plant is shaken with a wooden rod and the flies fly onto the polyethylene, where they are counted.

**Incidence and severity of virosis.** In each treatment, a quantification was performed (every 10 days) on plants with deformities, golden mosaics, wrinkles and leaf curling. Plants with these characteristics were divided between the total number of plants times 100. The viral severity was also estimated, using a pictorial severity scale of five types, created by the work group (Figure 1). The mean points of severity of each type of the proposed scale were obtained using the program 2-Log Ver. 1.0 (Mora *et al.*, 2000). Using the data obtained, disease progress curves were created, and the intensity of the disease was estimated using the

las moscas vuelan hacia el polietileno en donde se hace el conteo.

**Incidencia y severidad de virosis.** En cada tratamiento se cuantificó el número de plantas (cada 10 días) enfermas con deformaciones, mosaicos dorados, arrugamientos y acucharamientos. Las plantas con estas características se dividieron entre el número total de plantas por 100. También se estimó la severidad viral, mediante una escala de severidad pictórica de cinco clases elaborada por el grupo de trabajo (Figura 1). Los puntos medios de severidad de cada clase de la escala propuesta se obtuvieron con el programa 2-Log Ver. 1.0 (Mora *et al.*, 2000). Con los datos obtenidos se construyeron curvas del progreso de la enfermedad y se estimó la intensidad de la enfermedad con los siguientes parámetros epidemiológicos: Área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE), tasa de infección aparente (con el modelo Weibull mediante su parámetro 1/b) y severidad final ( $Y_{\text{final}}$ ) (Morales, 2011).

following epidemiological parameters: Area Under the Disease Progress Curve (AUDPC), apparent infection rate (with the Weibull model, with its parameter 1/b) and final severity ( $Y_{\text{final}}$ ) (Morales, 2011).

**Yield.** In each plantation, the number of fruits per plant and potential yield ( $\text{t ha}^{-1}$ ) were registered. Thirty fruits were selected at random per treatment and their length and equatorial diameter were measured, following the Mexican Official Norms NOM-189-SCFI-2017 for habanero peppers from the Yucatan peninsula.

**Statistical analyses.** The data obtained underwent an analysis of variance and the separation of means was carried out using the SNK method ( $P \leq 0.05$ ) with the SAS ver. 9.11 statistical package.

**Molecular identification of begomovirus.** The extraction of DNA was carried out following the

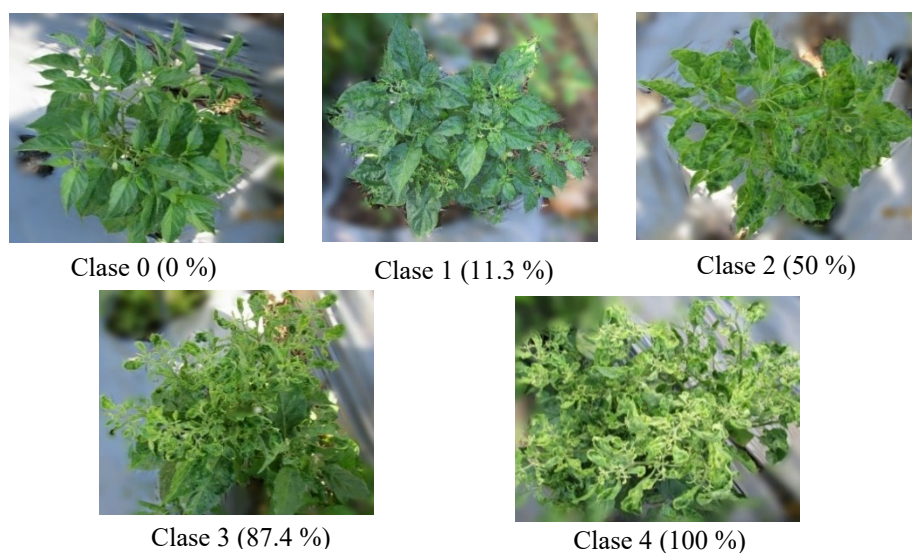


Figura 1. Escala pictórica de severidad en el patosistema *Capsicum chinense*-begomovirus.  
Figure 1. Pictorial severity in the *Capsicum chinense*-begomovirus pathosystem.

**Rendimiento.** En cada cosecha se registró el número de frutos por planta y el rendimiento potencial ( $t\ ha^{-1}$ ). Se seleccionaron 30 frutos al azar por tratamiento y se midió el largo y diámetro ecuatorial, de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-189-SCFI-2017 de chile habanero de la Península de Yucatán.

**Análisis estadísticos.** Los datos obtenidos se sometieron a análisis de varianza y la separación de medias se hicieron con el método de SNK ( $P \leq 0.05$ ) con el paquete estadístico SAS ver. 9.11.

**Identificación molecular de begomovirus.** La extracción de ADN se realizó de acuerdo al protocolo de DNAzol<sup>®</sup> Reagent según el proveedor (Life technologies) con modificaciones. De cada tratamiento y por cada repetición, se colectó una muestra foliar de tejido joven a partir de brotes nuevos (10 g) de 24 plantas con síntomas característicos de virosis a los 120 días después del trasplante (dat). La detección de begomovirus se realizó (en las 24 muestras colectadas) por Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) bajo las siguientes condiciones: un ciclo a 94 °C durante 30 s, 35 ciclos a 94 °C durante 30 s, 55 °C durante 30 s y finalmente un ciclo de 72 °C durante 30 s. En un tubo eppendorf se preparó una mezcla de reacción con los iniciadores AV494 (5'-GCCYATRTAYAGRAAGCCMAG-3') y AC1094 (5'-GGRTTDGARGCATGHGTACATG-3'); los cuales amplifican un segmento de la proteína de 600 pb de la cápside del género *Begomovirus* (Villanueva *et al.*, 2013). Con el fin de observar los productos finales de PCR, se realizó la electroforesis en gel de agarosa al 1% en un equipo Applied Biosystems teñido con bromuro de etidio, y en un fotodocumentador UVP (Científica Sienna). A partir de las muestras positivas, se seleccionaron al azar seis muestras para la secuenciación en ambos sentidos a Macrogen, Corea. El

DNAzol<sup>®</sup> Reagent protocol, according to the supplier (Life technologies), with modifications. Out of each treatment and for each repetition, a young foliar tissue sample was taken from new sprouts (10 g) from 24 plants with similar virosis characteristics 120 days after transplanting (dat). The detection of begomovirus was carried out (in the 24 samples taken) by Polymerase Chain Reaction (PCR) under the following conditions: one cycle at 94 °C for 30 s, 35 cycles at 94 °C for 30 s, 55 °C for 30 s, and finally, one cycle at 72 °C for 30 s. In an Eppendorf tube, a reaction mixture was prepared with primers AV494 (5'-GCCYATRTAYAGRAAGCCMAG-3') and AC1094 (5'-GGRTTDGARGCATGHGTACATG-3'), which amplified a segment of the 600 pb protein of the capsid of the genus *Begomovirus* (Villanueva *et al.*, 2013). In order to observe the final products of PCR, electrophoresis was carried out in 1% agarose gel in Applied Biosystems equipment, stained with ethidium bromide, and in a UVP (Científica Sienna) photodocumenter. Out of the positive samples, six were chosen at random for the sequencing in both directions to Macrogen, Korea. The analysis *in silico* of the nucleotide sequences obtained was carried out by comparing the sequence of the NCBI, (National Center for Biotechnology Information) database, using the program BLASTN (Basic Local Alignment Search Tool).

**Fluctuation of the whitefly population.** The first population record in the plantation was 40 dat and at 90 dat the largest average of insects per plant was quantified in habanero jaguar with 32 insects. At the end of the experiment, habanero jaguar and habanero criollo (ungrafted treatments), presented the highest average of the putative vector with 22 and 17 individuals per plant, respectively; whereas the treatments with grafting (muela + habanero

análisis *in silico* de las secuencias nucleotídicas obtenidas se realizó mediante comparaciones con las secuencias de la base de datos del NCBI, (National Center for Biotechnology Information), mediante el programa BLASTN (Basic Local Alignment Search Tool).

**Fluctuación poblacional de mosca blanca.** El primer registro poblacional en el cultivo fue los 40 ddt y a los 90 ddt se cuantificó el mayor promedio de insectos por planta en habanero jaguar con 32 insectos. Al final del experimento, habanero jaguar y habanero criollo (tratamientos sin injertar), presentaron mayor promedio del putativo vector con 22 y 17 individuos por planta, respectivamente; mientras que en los tratamientos donde se realizaron los injertos (muela + habanero jaguar, muela + habanero criollo, amashito + habanero jaguar y amashito + habanero criollo) mostraron menor población que oscilaron entre 5.5 a 14.5 insectos por planta (Figura 2). En un estudio con injertos de jitomate reportaron menor población de poblaciones de *Bactericera cockerelli*, *Liriomyza* spp. y áfidos (Cortes, 2010). Este efecto se ha explicado como

jaguar, muela + habanero criollo, amashito + habanero jaguar y amashito + habanero criollo) displayed lower populations that fluctuated between 5.5 and 14.5 insects per plant (Figure 2). A study with tomato grafts included a report of lower populations of *Bactericera cockerelli*, *Liriomyza* spp. and aphids (Cortes, 2010). This effect has been explained as an antixenosis, meaning that the insect feeds off least preferred foods, and even reproduces in them, but when there are plants with higher susceptibilities, such as the ungrafted controls, these are preferred by the insects.

**Incidence and severity of virosis.** At the end of the plantation, the lowest incidences of the disease were observed in muela + habanero criollo with 65%, and muela + habanero jaguar with 73% (Figure 3), in the remaining treatments, incidences were between 95 and 100%.

Severity was recorded starting 40 dat, and symptoms consisted of deformities, golden mosaics, wrinkling and leaf curling. According to the pictorial severity scale used, the treatments

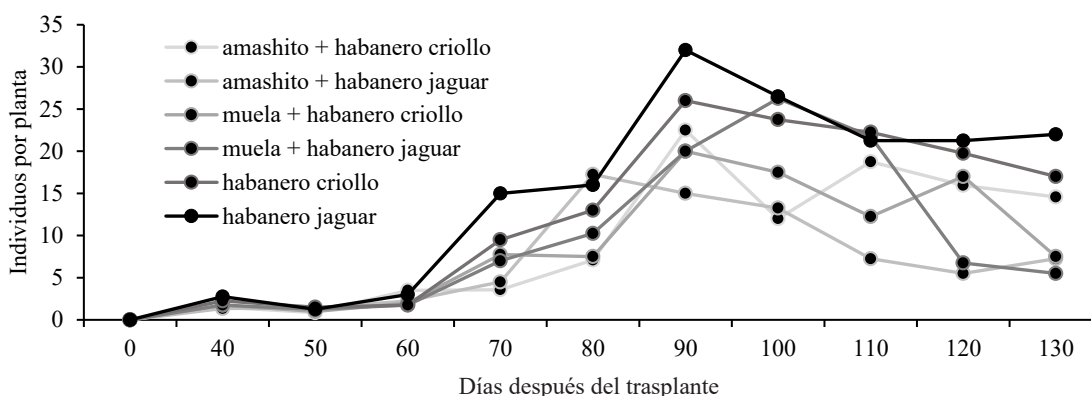


Figura 2. Fluctuación poblacional de mosca blanca en plantas injertadas y plantas testigo de habanero criollo y jaguar cultivados bajo condiciones de campo en Yucatán. Ciclo: Primavera-Verano.

Figure 2. Population fluctuation of whitefly in grafted plants and jaguar plants, planted under field conditions in Yucatan. Cycle: Spring-Summer.

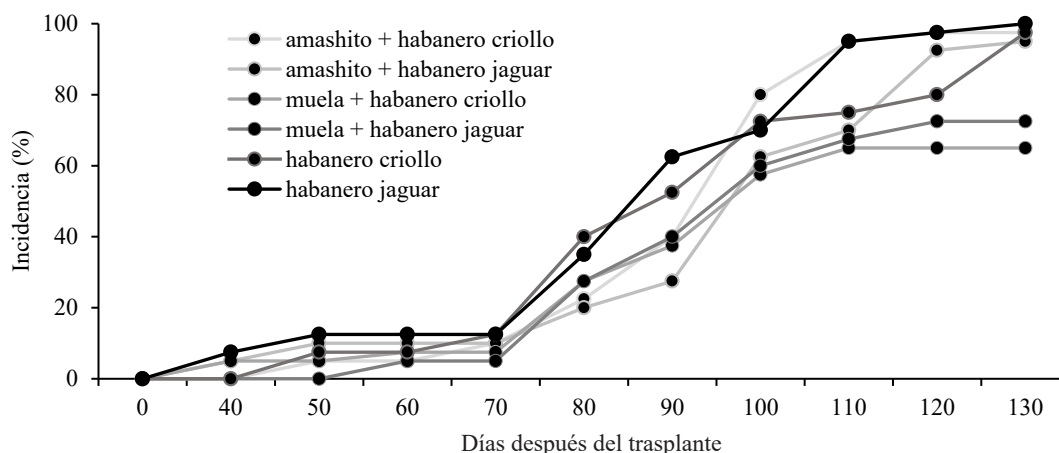
una antixenosis, es decir, el insecto se alimenta de plantas poco preferidas e incluso se reproduce en ellas, pero cuando hay plantas con mayor susceptibilidad, como los testigos sin injertar, éstas son preferidas por los insectos.

**Incidencia y severidad de virosis.** Al final del cultivo, las menores incidencia de la enfermedad se observaron en muela + habanero criollo con 65 % y muela + habanero jaguar con 73 % (Figura 3), el resto de los tratamientos las incidencias de la enfermedad fueron del 95 al 100 %.

La severidad se registró a partir de los 40 ddt, los síntomas en follaje consistieron en deformaciones, mosaicos dorados, arrugamientos y acucharamientos. De acuerdo con la escala pictórica de severidad empleada, los tratamientos que mostraron los mayores porcentajes de severidad final de virosis fueron en habanero jaguar y habanero criollo con 62 y 58% (clase 2). En estos tratamientos la severidad incrementó en 44 y 48%, en su orden en

that presented the highest percentages of final virosis severity were in habanero jaguar and habanero criollo with 62 and 58 % (type 2). In these treatments, the severity increased by 44 and 48%, respectively, in relation to muela + habanero criollo, which allowed the 24% of final severity (type 1) (Figure 4).

In muela + habanero criollo, a value was presented below 746.6 % per day of the AUDPC with regard to habanero criollo and habanero jaguar, which displayed the highest intensity of the disease, with 2115.1 and 2341.2 % per day. The lowest apparent infection rate was registered in grafted treatments, particularly in muela + habanero criollo, and therefore, the health of the plants was better than in the rest of the treatments. At the end of the plantation, the grafted treatments had a lower trend in the  $Y_{final}$ ; likewise, in muela + habanero criollo, it helped obtain the lowest average for the  $Y_{final}$  (Table1). Investigations carried out with watermelon grafts reduced the AUDPC and improved crop yield (Winner *et al.*, 2015).



**Figura 3.** Incidencia de virosis en plantas injertadas de *Capsicum chinense-Capsicum annuum* cv. glabriusculum, bajo condiciones de campo en Yucatán. Ciclo: Primavera-Verano.

**Figure 3.** Incidence of virosis in grafted *Capsicum chinense-Capsicum annuum* cv. glabriusculum plants, under field conditions in Yucatan. Cycle: Spring-Summer.



relación con muela + habanero criollo que permitió el 24% de severidad final (clase 1) (Figura 4).

En muela + habanero criollo, se presentó un valor inferior de 746.6% por día del ABCPE con respecto al habanero criollo y el habanero jaguar que mostraron la mayor intensidad de la enfermedad con 2115.1 y 2341.2% por día. La menor tasa de infección aparente se registró en los tratamientos injertados, en particular en muela + habanero criollo, por lo que la sanidad de las plantas fue mejor que del resto de los tratamientos. Al final del cultivo, los tratamientos injertados, tuvieron una tendencia menor en la  $Y_{final}$ , también en muela + habanero criollo permitió el menor promedio de la  $Y_{final}$  (Cuadro 1). Trabajos realizados con injertos de sandía, disminuyeron el ABCPE y mejoraron el rendimiento del cultivo (Winmer *et al.*, 2015). En otro estudio demostraron que el uso de plantas injertadas en pimiento mejoró el comportamiento agronómico y el manejo de diversas plagas y enfermedades (Sánchez *et al.*, 2015). El uso de injertos, provee plantas vigorosas, capaces de permitir el crecimiento del cultivo en presencia de fitoparásitos

Another study showed how the use of plants grafted onto bell pepper plants improved the agronomic behavior and the management of pests and diseases (Sánchez *et al.*, 2015). The use of grafts provides vigorous plants, able to allow crop development in the presence of phytoparasites (Acevedo and Sánchez, 2017). In addition, it has been reported that grafted plants can activate defense mechanisms; in tobacco plants, the grafts promoted the accumulation of phenolic compounds and salicylic acid, which stimulated the peroxidase activity, and the replication of the *Potato Y virus* (PVY<sup>NTN</sup>) was reduced, resulting in the manifestation of only mild symptoms (Spoustová *et al.*, 2015). On the other hand, the resistance mechanisms in grafted tomato plants against *Pseudomonas solanacearum* were related to the rootstock, particularly in the lower section of the stem, where tyloses were formed (Grimault *et al.*, 1994). Grafted plants are known to share epigenetic traits, which makes them maintain their original genomes, even when they do not share DNA, although the epigenetic information is established within the plants (Fuentes *et al.*,

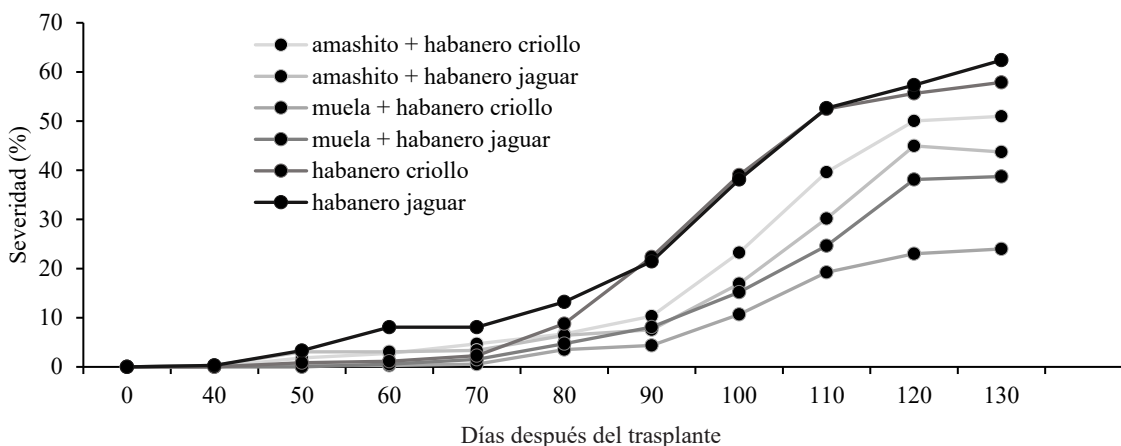


Figura 4. Severidad de virosis en plantas injertadas de *Capsicum chinense-Capsicum annuum* cv. *glabriusculum*, bajo condiciones de campo en Yucatán. Ciclo: Primavera-Verano.

Figure 4. Severity of virosis in *Capsicum chinense-Capsicum annuum* cv. *glabriusculum* grafted plants, under field conditions in Yucatan. Cycle: Spring-Summer.

**Cuadro 1. Parámetros epidemiológicos estimadores de intensidad de enfermedad en el patosistema con injertos de *Capsicum chinense*-begomovirus.****Table 1. Epidemiological parameters, estimators of the intensity of the disease in the pathosystem with *Capsicum chinense*-begomovirus grafts.**

Tratamiento	ABCPE (unidad % por día)	Tasa de la infección aparente (Weibull <sup>1b</sup> % por día)	r <sup>2</sup> (ajuste del modelo Weibull)	Y <sub>final</sub> (%)
amashito + habanero criollo	1646.3 ab <sup>z</sup>	0.0073 ab	0.95	50.97 b
amashito + habanero jaguar	1381.5 bc	0.0066 ab	0.92	43.70 c
muela + habanero criollo	746.6 c	0.0050 b	0.93	23.49 d
muela + habanero jaguar	1122.5 bc	0.0063 ab	0.94	40.72 c
habanero criollo	2115.1 a	0.0074 ab	0.93	56.63 ab
habanero jaguar	2341.2 a	0.0081 a	0.95	62.38 a

<sup>z</sup> Medias con la misma letra dentro de la misma columna no son significativamente diferentes (SNK, P≤0.05) / Means with the same letter in the same column are not significantly different (SNK, P≤0.05).

(Acevedo y Sánchez, 2017). También, se ha reportado que plantas injertadas pueden activar mecanismos de defensa; en plantas de tabaco los injertos promovieron la acumulación de compuestos fenólicos y ácido salicílico, lo que estimuló la actividad de peroxidasa, y se disminuyó la replicación del el *Potato Y virus* (PVY<sup>NTN</sup>) y solo se manifestaron síntomas leves (Spoustová *et al.*, 2015). Por otro lado, los mecanismos de resistencia en plantas injertadas de jitomate contra *Pseudomonas solanacearum* estuvieron asociadas con el portainjerto, en particular en la parte inferior del tallo donde se formaron tilosas (Grimault *et al.*, 1994). Se sabe que plantas injertadas comparten rasgos epigenéticos, lo que las hace mantener sus genomas originales, aun cuando no comparten ADN, pero la información epigenética se establece dentro de las plantas (Fuentes *et al.*, 2014), lo que podría explicar, la respuesta tolerante a begomovirus en este estudio con plantas injertadas.

**Rendimiento.** El ciclo del cultivo fue de 130 días después del trasplante y se realizaron seis cosechas. El análisis de varianza mostró diferencias significativas (P≤0.01). Los tratamientos injertados

2014), which may explain the tolerant response to begomovirus in this study with grafted plants.

**Yield.** The planting cycle was 130 days after grafting and six harvests were carried out. The analysis of variance displayed significant differences (P≤0.01). The grafted treatments had a higher yield, particularly amashito + habanero criollo, amashito + habanero jaguar and muela + habanero criollo with an estimated potential yield of 18.3, 18.4 and 18.4 t ha<sup>-1</sup> (Table 2). The grafted plants are tolerant to various environmental stresses, such as drought, salinity, pests and diseases, and therefore improve water and nutrient absorption, and thus have a vigorous growth, a prolonged growth period, and an increased yield (Acevedo and Sánchez, 2017). In muela + habanero jaguar, the lowest estimated yield potential was found, with 9.8 t ha<sup>-1</sup>. Although the rootstocks are often carried out to provide greater yield, they may occasionally reduce it, due to compatibility with the plant being grafted. In solanaceae and cucurbits, the graft on vigorous patterns increased the production, although it depended on the rootstock-variety combination and the conditions of plantations (Di Gioia *et al.*, 2010).

tuvieron mayor rendimiento, en particular amashito + habanero criollo, amashito + habanero jaguar y muela + habanero criollo con un rendimiento potencial estimada de 18.3, 18.4 y 18.4 t ha<sup>-1</sup> (Cuadro 2). Las plantas injertadas poseen tolerancia a varios ambientes estresantes, como sequía, salinidad, plagas y enfermedades; por lo que mejoran la absorción de agua y nutrientes, y con ello un crecimiento vigoroso, prolongación del periodo de crecimiento e incremento en el rendimiento (Acevedo y Sánchez, 2017). En muela + habanero jaguar, se tuvo la menor rendimiento potencial estimada con 9.8 t ha<sup>-1</sup>. Aunque los portainjertos a menudo se realizan para proporcionar mayor rendimiento, en ocasiones pueden reducirlo, por la compatibilidad con la planta a injertar. En solanáceas y cucurbitáceas, el injerto sobre patrones vigorosos logró incrementar la producción, aunque dependió de la combinación portainjerto-variedad y las condiciones de cultivo (Di Gioia *et al.*, 2010).

**Frutos.** Se observaron diferencias significativas ( $P \leq 0.01$ ) en el tamaño de fruto (Cuadro 2).

De acuerdo con la NOM-189-SCFI-2017, establece parámetros aceptables de 3.8 a 5.5 cm de

**Fruits.** Significant differences ( $P \leq 0.01$ ) were observed in fruit sizes (Table 2). The NOM-189-SCFI-2017 establishes acceptable parameters between 3.8 and 5.5 cm in length and between 2.5 and 3.0 cm in width for habanero peppers. The results obtained in this study show that all treatments fulfill the parameters established by the NOM, with a range of 4.6 to 4.8 cm in length and 2.8 to 3.0 cm in diameter (Table 2).

**Sequencing, analysis and identification of begomovirus.** The sequencing of the six samples that gave positive for begomovirus displayed a homology of 83 to 91% of nucleotidic investigation with two isolations, DZI03W20 and GU355941.1 of the GenBank by BLASTn which corresponded to the *Pepper golden mosaic virus* (PepGMV) and the *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV). Out of the total, 84% were bipartite and corresponded to the treatments amashito + habanero criollo, amashito + habanero jaguar, muela + habanero criollo, muela + habanero jaguar and habanero criollo, and the remaining 16%, monopartite, detected in the treatment of habanero criollo. The sequences helped securely identify the presence of begomovirus, although it is recommended to

**Cuadro 2. Rendimiento total y número de frutos de plantas injertadas y plantas testigo de habanero criollo y jaguar cultivados bajo condiciones de campo en Yucatán.**

**Table 2. Total yield and number of fruits from grafted and control creole and jaguar habanero plants sown under field conditions in Yucatan.**

Tratamiento	Rendimiento (t ha <sup>-1</sup> )	Total de frutos por ciclo	Largo (cm)	Diámetro (cm)
amashito + habanero criollo	18.3 ± 0.06 a <sup>z</sup>	667 ± 27.3 c	4.7 ± 0.08 a	3.0 ± 0.01 a
amashito + habanero jaguar	18.4 ± 0.07 a	466 ± 16.7 e	4.8 ± 0.03 a	2.9 ± 0.02 b
muela + habanero criollo	18.4 ± 0.09 a	887 ± 15.7 a	4.8 ± 0.01 a	2.9 ± 0.03 b
muela + habanero jaguar	9.8 ± 0.05 d	585 ± 13.6 d	4.7 ± 0.04 a	2.8 ± 0.04 b
habanero criollo	12.2 ± 0.08 b	760 ± 13.8 b	4.6 ± 0.05 a	2.8 ± 0.03 b
habanero jaguar	13.8 ± 0.06 c	718 ± 28.2 b	4.7 ± 0.05 a	2.8 ± 0.01 b

<sup>z</sup> Medias con la misma letra dentro de la misma columna no son significativamente diferentes (SNK,  $P \leq 0.05$ ) / Means with the same letter in the same column are not statistically different (SNK,  $P \leq 0.05$ ).

largo y de 2.5 a 3.0 cm de ancho para el chile habanero. Los resultados obtenidos en este estudio demuestran que todos los tratamientos cumplen con los parámetros establecidos de la NOM, con un rango de 4.6 a 4.8 cm de largo y de 2.8 a 3.0 cm de diámetro (Cuadro 2).

**Secuenciación, análisis e identificación de begomovirus.** La secuenciación de las seis muestras positivas a begomovirus mostraron una homología del 83 al 91% de identidad nucleótida con dos aislados, el DZI03W20 y el GU355941.1 del GenBank mediante BLASTn que correspondieron a *Pepper golden mosaic virus* (PepGMV) y al *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV). El 84% fueron bipartita y correspondieron a los tratamientos amashito + habanero criollo, amashito + habanero jaguar, muela + habanero criollo, muela + habanero jaguar y habanero jaguar y el 16% monopartita detectado en el tratamiento habanero criollo. Las secuencias permitieron identificar con seguridad la presencia de begomovirus, aunque se recomienda utilizar oligonucleótidos específicos para cada uno de los virus preliminarmente identificados. Solamente uno de los productos de PCR enviados a secuenciar resultó con un porcentaje de homología del 83%, este porcentaje puede estar asociado con la presencia de bases no definidas (N) en algunas de las posiciones de la secuencia resultante o a otra especie de begomovirus. Sin embargo, este porcentaje realmente es mayor si se considera la edición con base al cromatograma correspondiente; proceso no realizado en los datos reportados. En el caso de los begomovirus, se ha establecido que la secuencia de una especie con una homología  $\geq 91\%$  con todo el genoma o parte del componente DNA-A, significa que se trata de la especie en cuestión, mientras que si se tiene una homología  $< 91\%$ , entonces debe considerarse una especie nueva (Brown *et al.*, 2015).

use specific oligonucleotides for each one of the preliminarily identified viruses. Only one of the products of PCR sent for sequencing turned out to have a percentage of homology of 83%, a percentage which may be related to the presence of undefined bases (N) in some of the positions of the resulting sequences or to another species of begomovirus. However, this percentage is actually higher if we consider the editing based on the corresponding chromatogram, a process which was not carried out in the data reported. In the case of begomovirus, it has been established that the sequence of one species with a homology  $\geq 91\%$  with the whole genome or part of the DNA-A component, means that we are dealing with the species in question, whereas if there is a homology  $< 91\%$ , then we are dealing with a new species (Brown *et al.*, 2015). Based on the results, the muela + habanero criollo grafts conferred a higher tolerance to virosis and had a lower white fly population. The amashito + habanero jaguar, amashito + habanero criollo and muela + creole habanero grafts displayed a better agronomic behavior and crop productivity.

~~~~~ End of the English version ~~~~~

Con base en los resultados, los injertos de muela + habanero criollo confirieron mayor tolerancia a virosis y tuvo menor población de mosca blanca. Los injertos amashito + habanero jaguar, amashito + habanero criollo y muela + habanero criollo mostraron mejor comportamiento agronómico y productividad del cultivo.

## LITERATURA CITADA

Acevedo J y Sánchez C. 2017. Eficiencia del uso de portainjerto sobre el rendimiento y dinámica nutricional foliar de macronutrientes en pimiento morrón. Revista Mexicana de

- Ciencias Agrícolas 8: 685-693. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=263150932016>.
- Brown JK, Zerbini FM, Navas-Castillo J, Moriones E, Ramos-Sobrinho R, Silva JCF, Fiallo-Olivé E, Briddon RW, Hernández-Zepeda C, Idris A, Malathi VG, Martin DP, Rivera-Bustamante R, Ueda S and Varsani A. 2015. Revision of begomovirus taxonomy based on pairwise sequence comparisons. *Archives of Virology*. 6:1593- 1619. <https://doi.org/10.1007/s00705-015-2398-y>.
- Cortes H. 2010. Resistencia a insectos de tomate injertado en parientes silvestres, con énfasis en *Bactericera cockerelli* Sulc. (Hemiptera: Psilidae). *Bioagro* 22:11-16. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85716706002>.
- Di Gioia F, Serio F, Buttaro D, Ayala O and Santamaria P. 2010. Influence of rootstock on vegetable growth, fruit yield and quality in “cuore di bue”, an heirloom tomato. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 85:477-482. <https://doi.org/10.1080/14620316.2010.11512701>.
- Fuentes I, Stegemann S, Golczyk H, Karcher D and Bock R. 2014. Horizontal genome transfer as an asexual path to the formation of new species. *Nature* 00:1-4. DOI. 10.1038/nature13291.
- García M, Trejo D y Rivera R. 2010. Veinte años de investigación con *Geminivirus* en vegetales en Guanajuato. *Acta Universitaria*. 3:84-92. <https://doi.org/10.15174/au.2010.64>.
- George D, Banfield J, Collier R, Cross J, Birch A, Gwynn R and Neill T. 2015. Identification of novel pesticides for use against glasshouse invertebrate pests in UK tomatoes and peppers. *Insects* 6:464. <https://doi.org/10.3390/insects6020464>.
- Grimault V, Lie B, Lemattre M, Prior P and Schmit J. 1994. Comparative histology of resistant and susceptible tomato cultivars infected by *Pseudomonas solanacearum*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 44:105-123. <https://www.academia.edu/29584807>.
- Mora A, Rivas V, Góngora C, Tovar S, Cristóbal J, Loeza K, Michereff J, Marinelli A y Osada V. 2000. Sistemas computarizados en epidemiología: 2-Log ver. 1.0 y su aplicación en el diseño de escalas diagramáticas logarítmicas. XXIX Simposio Nacional de Parasitología Agrícola. Puerto Vallarta, México.
- Morales F. 2011. Interaction between *Bemisia tabaci*, Begomoviruses and plant species in Latin America and the Caribbean. In: Thompson, W. (ed). *The Whitefly, Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) Interaction with Geminiviruses-Infected Host plants. Netherlands. pp. 15-49. [https://links.springer.com/chapter/10.1007/978-94-007-1524-0\\_2](https://links.springer.com/chapter/10.1007/978-94-007-1524-0_2).
- Sánchez E, Torres A, Flores M, Preciado P y Márquez C. 2015. Uso de portainjerto sobre el rendimiento, calidad del fruto y resistencia a *Phytophthora capsici* Leonian en pimiento morrón. *Nova Scientia* 7:227-244. <https://www.redalyc.org/pdf/2033/203342741014.pdf>.
- Spoustová P, H'ysková V, Müller K, Schnablová R, Ryčslavá H, Ce'rovská N, Malbeck J, Cvikrová M and Synková H. 2015. Tobacco susceptibility to Potato virus YNTN infection is affected by grafting and endogenous cytokinin content. *Plant Science* 235: 25–36. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2015.02.017>.
- Villanueva H, Us R, López L, Robertson D, Guerra O, Minero Y and Moreno O. 2013. A new virus-induced gene silencing vector based on *Euphorbia mosaic virus*-Yucatan peninsula for NPR1 silencing in *Nicotiana benthamiana* and *Capsicum annuum* var. Anaheim. *Biotechnology letters*35: 811-823. <https://doi.org/10.1007/s10529-013-1146-1>.
- Wang J, Zhang D and Fang Q. 2002. Studies on antiviral disease mechanism of grafted seedless watermelon. *Journal of Anhui Agricultural College* 29: 336-339. <http://europmc.org/article/cba/392005>.
- Winmer J, Inglis D and Mile C. 2015. Evaluating grafted watermelon for *Verticillium* wilt Severity, yield, and fruit quality in Washington State. *Hortsciencie*. 50:1332-1337. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.50.9.1332>.