

## Injertos en chiles tipo Cayene, jalapeño y chilaca en el noroeste de Chihuahua, México\*

### Grafting in Cayenne, jalapeño and chilaca chili peppers in northwestern Chihuahua, Mexico

Pedro Osuna-Ávila<sup>1</sup>, Julio Aguilar-Solís<sup>1</sup>, Sylvia Fernández-Pavía<sup>2</sup>, Heriberto Godoy-Hernández<sup>3</sup>, Baltazar Corral-Díaz<sup>1</sup>, Juan Pedro Flores-Margez<sup>1</sup>, Alberto Borrego Ponce<sup>1</sup> y Evangelina Olivas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Chihuahua. Av. Plutarco Elías Calles 1210. FOVISSTE Chamizal, Ciudad Juárez, Chihuahua. C. P. 32310. Tel (656)688 1800. Ext. 5104. (posuna@uacj.mx). Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Carretera Morelia-Zinapécuaro, km. 9.5. Tarimbaro, Michoacán, C. P. 58880. (fernandezpavia@hotmail.com). <sup>3</sup>Campo Experimental Bajío, INIFAP. Carretera Celaya-San Miguel de Allende, km. 6.5, col. Roque, Celaya. C. P. 38110, Celaya Guanajuato. (hgodyh@gmail.com). Autor para correspondencia: posuna@uacj.mx.

#### Resumen

En semillas cosechadas por los agricultores se estudió la influencia en la sincronización de los diámetros de tallos en injertos comunes y recíprocos utilizando los tipos de chiles, jalapeño, chilaca y Cayene como injertos y el criollo de Morelos CM-334 como portainjerto. El grosor del tallo del CM 334 presentó mayor compatibilidad con el chile tipo jalapeño y con el tipo chilaca y fue muy distante con el grosor del tallo del tipo de chile Cayene. La formación de callo abundante entre la unión de los injertos ensayados mostró buena aptitud y afinidad lo cual permitió la conexión firme del cambium con el patrón. Los porcentajes de supervivencia de los injertos fueron 90% con los chiles lo cual está dentro del rango aceptable a nivel comercial. El usar el CM 334 como un portainjerto resistente a *P. capsici* podría formar parte del manejo integrado para controlar la marchitez en estos tipos de chiles comerciales. El injerto recíproco puede ser usado para estudiar genes asociados con procesos de regulación de señales a distancia capaces de moverse de la raíz al brote como ramificaciones, floración, resistencia sistémica y respuestas a estrés abiótico.

**Palabras clave:** *Capsicum annuum* Leo, chiles comerciales, injerto recíproco, injerto común, portainjerto.

#### Abstract

In seeds harvested by farmers, the influence on the timing of the diameters of stems was studied in common and reciprocal grafts using chilies, jalapeno, chilaca and Cayenne as grafts and, landrace Morelos CM-334 as the rootstock. CM 334's stem diameter showed high compatibility with jalapeno and chilaca, and was very distant with Cayenne. Abundant callus formation between the unions of the tested grafts showed good aptitude and affinity which allowed the firm connection of the vascular cambium. The rates of graft survival were of 90% with chilies, which is within the acceptable range for commercially purposes. Using CM 334 as a rootstock resistant to *P. capsici* could be part of an integrated control for wilt in these types of commercial chilies. The reciprocal graft can be used to study genes associated with regulatory processes of signals able to move from the roots to the sprout, such as branching, flowering, systemic resistance and abiotic stress responses.

**Key words:** *Capsicum annuum* Leo, commercial chili peppers, reciprocal graft, common graft, rootstock.

\* Recibido: noviembre de 2011  
Aceptado: junio de 2012

## Introducción

El injerto es un método de propagación que consiste en unir una parte de una planta a otra que ya está asentada. El resultado es un individuo autónomo formado por 2 plantas y variedades. La planta injertada está constituida por un patrón o portainjerto que es la planta que recibe a la porción de tejido llamada injerto. El patrón generalmente no tiene valor agronómico, pero genéticamente contiene genes de resistencia o tolerancia a estrés biótico (King *et al.*, 2010) o abiótico (Zhao *et al.*, 2011). La otra parte es el injerto o variedad comercial que es una porción de tallo o yema que se fija al patrón para que se desarrollen ramas, hojas, flores y frutos (Hartmann *et al.*, 1997). En otras palabras las raíces pertenecen a una especie o variedad y el tronco o las ramas pertenecen a otra. Originalmente el propósito de la técnica de injerto en cultivos hortícolas era evadir las enfermedades causadas por patógenos del suelo (Louws *et al.*, 2010) actualmente también se utiliza por evitar problemas de estrés abiótico. En países como Japón y Corea la utilización de este método ha ido en aumento (Sakata *et al.*, 2007; Lee *et al.*, 2010). Recientemente, cultivos como: sandía, melón, pepino, tomate entre otros son comúnmente injertados con patrones resistentes a patógenos para su venta comercial (Sakata *et al.*, 2008).

Además, la técnica del injerto provee ventajas para enfrentar el estrés abiótico, reducir las aplicaciones químicas o fertilizantes e incrementar la calidad de los frutos (Colla *et al.*, 2010 a, b; Schwarz *et al.*, 2010). El injerto recíproco es un buen sistema para revelar genes asociados en los procesos de señales a distancia, tales como floración, resistencia sistémica y respuestas a estrés abiótico (Turnbull *et al.*, 2002). Estudios en *Arabidopsis*, y en chícharo fueron consistentes con el concepto que la señal de la ramificación es capaz de moverse de la raíz al brote pero no de brote a brote (Turnbull *et al.*, 2002). Injertos recíprocos en tabaco demostraron que el ácido salicílico no es el responsable de la señal para inducir resistencia sistémica adquirida pero este es requerido en la transducción de la señal en tejidos distantes del sitio de infección para inducir la resistencia sistémica (Vernooij *et al.*, 1994).

Los tipos de injertos y el control de las condiciones ambientales son importantes para el éxito de esta técnica. Dentro de ellos el injerto por aproximación es más recomendado ya que ambos conservan sus raíces a lo largo del proceso de cicatrización; sin embargo, es una técnica laboriosa y costosa. Los injertos de empalme o de púa, son técnicas más rápidas donde el injerto se coloca directamente

## Introduction

Grafting is a method of propagation which consists in joining a portion of a plant into another already established. The result is an autonomous individual consisting of 2 plants and varieties. The plant consists of a pattern or rootstock, which is the plant receiving the portion of tissue, called the graft. The rootstock, generally has no agronomic value, but genetically contains genes for resistance or tolerance to biotic stress (King *et al.*, 2010) or abiotic (Zhao *et al.*, 2011). The other part is the graft or commercial variety that is a piece of stem or bud attached to the rootstock to develop branches, leaves, flowers and fruits (Hartmann *et al.*, 1997). In other words, the roots belong to a species or variety and the trunk or branches to another. Originally the purpose of the grafting technique on horticultural crops was to avoid diseases caused by soil pathogens (Louws *et al.*, 2010) now, it's also used to avoid problems of abiotic stress. In countries like Japan and Korea, usage for this method has been increasing (Sakata *et al.*, 2007; Lee *et al.*, 2010). Recently, crops such as watermelon, cantaloupe, cucumber, tomato among others are commonly grafted with rootstocks resistant to pathogens for commercial purposes (Sakata *et al.*, 2008).

Furthermore, the grafting technique provides advantages to address abiotic stress, reduce chemical and fertilizer applications and increase the quality of the fruits (Colla *et al.*, 2010 a, b; Schwarz *et al.*, 2010). The reciprocal graft is a good way to reveal genes associated in the process of distant signals, such as flowering, systemic resistance and abiotic stress responses (Turnbull *et al.*, 2002). Studies in *Arabidopsis*, and peas were consistent with the concept that, the sign of the branch is able to move from the root to the shoot but, not between buds (Turnbull *et al.*, 2002). Reciprocal grafts in tobacco showed that, the salicylic acid is not responsible for the signal to induce systemic acquired resistance but, this is required for the transduction of the signal in distant tissues from the site of infection in order to induce the systemic resistance (Vernooij *et al.*, 1994).

The types of grafts and the environmental control conditions are important to the success of this technique. Within these, the grafting approach is recommended since both retain their roots along of the healing process; however, is a laborious and expensive technique. The graft joint or barbed, are faster techniques where the graft is placed directly into the rootstock without preserving its roots but

en el patrón sin conservar sus raíces pero exigen condiciones controladas de temperatura (27 °C) y humedad relativa (80%) durante el periodo de soldadura (Oda, 1995). En países europeos, las especies hortícolas, que se han injertando son solanáceas (tomate, pimienta y berenjena) y cucurbitáceas (melón, sandía y pepino) debido a su alta demanda por los agricultores y a su buena aptitud y afinidad para el injerto, lo cual parece estar relacionado a la extensión del cambium. En México sólo se ha reportado un caso de injerto de chile del tipo ancho en Celaya, Guanajuato, (García-Rodríguez *et al.*, 2010). Ellos evaluaron *in vitro* la resistencia al patógeno del suelo: *Phytophthora capsici* en el cultivar tipo serrano Criollo de Morelos 334 (CM 334) y de cuatro patrones comerciales. Concluyeron que el CM 334 como patrón mostró la más baja incidencia (1%) de la enfermedad, indicando que tiene potencial para producir chile aun en zonas con alta incidencia de *P. capsici*.

Si ésta técnica se utiliza con las variedades comerciales de chile que crecen en el estado de Chihuahua (Cayene, chilaca y jalapeño) las cuales son susceptibles a este patógeno, se podrían reducir de manera significativa las pérdidas cuantiosas que llega a causar, pérdidas hasta 100% (Guijón y González, 2001; Rico-Guerrero *et al.*, 2004). Estudios científicos han demostrado que el CM-334 es tolerante a patógenos del suelo y es utilizado como un modelo para hacer mejoramiento genético en plantas de chile (Fernández-Pavia y Liddel, 1998; Santos y Goto, 2004; García-Rodríguez *et al.*, 2010). La poca disponibilidad de semilla certificada comercial de variedades en el noroeste de Chihuahua, ocasiona la utilización de semilla de baja calidad genética y fisiológica, que además incrementa los riesgos en la variabilidad del rendimiento, calidad de fruto y germinación de la semilla. Investigaciones con factores relacionados al éxito del injerto son muy escasas en plantas de chiles.

El objetivo de este estudio fue determinar el porcentaje de la germinación de semillas de la propia cosecha y su influencia en la sincronización de los diámetros de tallos entre el injerto y el patrón. El tipo de injertos comunes y recíprocos también fueron incluidos.

## Materiales y métodos

**Material vegetal.** Se seleccionaron los tres tipos de chiles más sembrados en la región noroeste del estado de Chihuahua como son el jalapeño, chilaca y Cayene,

it requires a controlled temperature (27 °C) and relative humidity (80%) during welding (Oda, 1995). In European countries, horticultural species, which have been grafted, are nightshades (tomatoes, peppers and eggplant) and cucurbits (melon, watermelon and cucumber) due to high demand for farmers and good aptitude and affinity for grafting, which appears to be related to the extension of the cambium. In Mexico, there has only been reported a case of graft-type chili in Celaya, Guanajuato (García-Rodríguez *et al.*, 2010). They evaluated *in vitro* the resistance to soil pathogens: *Phytophthora capsici* in cultivar Serrano Criollo de Morelos 334 (CM 334) and four commercial rootstocks. They concluded that CM 334 as a rootstock showed the lowest incidence (1%) of disease, indicating that it has quite a potential to produce chili pepper, even in areas with high incidence of *P. capsici*.

If this technique is used with commercial varieties of chilies grown in the State of Chihuahua (Cayenne, chilaca and jalapeno), susceptible to this pathogen, it could significantly reduce the substantial losses that does cause, losses up to 100 % (Gihon and González, 2001; Rico-Guerrero *et al.*, 2004). Scientific studies have shown that CM-334 is tolerant to soil pathogens and is used as a model for genetic improvement in chili pepper (Fernández-Pavia and Liddell, 1998; Santos and Goto, 2004; García-Rodríguez *et al.*, 2010). The limited availability of commercial certified seed varieties in northwestern Chihuahua, causes the use of low genetics and physiological quality seeds, risking also to increases the variability of yield, fruit quality and seed germination. Researches with factors related to grafting success are quite slim for chili pepper plants.

The aim of this study was to determine the percentage of germination of the seeds of the crop itself and, its influence on the timing of the stem diameter between the graft and the rootstock. The types of common and reciprocal grafts were also included.

## Materials and methods

**Plant material.** We selected three kinds of chilies grown in the northwestern part of Chihuahua State, such as jalapeno, chilaca and Cayenne, susceptible to *Phytophthora capsici*. The rootstock used was Criollo de Morelos (CM-334) considered being resistant to this pathogen. The seeds of the commercial peppers were donated by producers whose

susceptibles a *Phytophthora capsici*. El patrón o portainjerto utilizado fue el Criollo de Morelos (CM-334) considerado resistente a dicho patógeno. Las semillas de los tipos de chiles comerciales fueron donadas por productores cuya selección tradicional es la de usar semilla de su propia cosecha, mientras que la del CM-334 fue donada por el laboratorio de patología vegetal de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

**Germinación de semillas.** Las semillas fueron germinadas en cajas petri de 100 X 20 mm (marca Fisher), colocando 150 semillas de cada uno de los tipos de chiles comerciales y 300 semillas del CM-334 en papel secante humedecido con agua destilada. Se colocaron 50 semillas por caja petri y se incubaron en una cámara de crecimiento bajo condiciones de luz a 26 °C. Esta técnica se hizo para estandarizar el tamaño y número de plantas útiles para trasplantar en el invernadero. Se tomaron datos de porcentaje de germinación (acumulando el porcentaje de cada día) durante un periodo de 8 días, y aparición de los cotiledones por cada tipo de chile.

**Comparación de grosor de tallos del injerto y del portainjerto.** Los experimentos se realizaron en el invernadero de la Universidad Autónoma de Cd. Juárez, Chihuahua, México (31° 44' 22" latitud norte 106° 29' 13" longitud oeste, y a una altitud de 1 120 msnm). Los tres tipos de chiles comerciales (Cayenne, chilaca y jalapeño) y el portainjerto CM-334, se trasplantaron a raíz desnuda en vasos de unicel de 14 Oz conteniendo el sustrato Miracle-Grow® y se mantuvieron en invernadero a 28 °C. Cuando aparecieron las primeras 6-8 hojas (aproximadamente 45 días después de la germinación) se procedió al estudio del grosor del tallo para iniciar la técnica del injerto.

El grosor del tallo se midió con un vernier metálico justo arriba de los cotiledones, en todas las plantas. Se desarrolló un análisis de varianza para determinar si hubo diferencias significativas para la variable grosor de tallos y una comparación de medias por Tukey para definir el tipo de injerto por afinidad de grosor (SPSS Statistic 18). Las comparaciones fueron entre los que se consideraban patrones o injertos tanto comunes como recíprocos.

**Técnicas de injertos comunes y recíprocos.** Se usaron 25 plantas de cada tipo de chile comercial, las cuales sirvieron tanto de patrón como de injerto y 75 del CM 334. En los injertos comunes, se eliminó el brote del patrón CM-334,

traditional choice is to use seed of their own, while CM-334 was donated by the plant pathology laboratory of the Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

**Seed germination.** The seeds were germinated in Petri dishes of 100 X 20 mm (Fisher brand), placing 150 seeds of each type of the commercial peppers and 300 CM-334's seeds on a filter paper moistened with distilled water. 50 seeds were placed in the petri dish and incubated in a growth chamber under light conditions at 26 °C. This technique was made to standardize the size and number of useful plants for transplanting in the greenhouse. Data were collected on percentage of germination (accumulating the percentage of each day) for a period of 8 days, and cotyledons appearance for each type of chili.

**Graft and rootstock's stem thickness comparison.** The experiments were conducted in the greenhouse at the Autonomous University of Ciudad Juárez, Chihuahua, Mexico (31° 44' 22" north latitude 106° 29' 13" west longitude at an elevation of 1 120 m). The three types of commercial peppers (Cayenne, chilaca and jalapeno) and CM-334 rootstock were transplanted bare-root in 14 Oz foam cups containing the substrate Miracle-Grow® and kept in a greenhouse at 28 °C. When the first 6-8 leaves appeared (approximated 45 days after germination), we proceeded to study the stem width to initiate the grafting technique.

The stem diameter was measured with a vernier metal just above the cotyledons, in all the plants. We developed an analysis of variance to determine if there were any significant differences for the variable thickness of stems and a comparison of means by Tukey to define the type of graft thickness affinity (SPSS Statistic 18). Comparisons were among those considered rootstocks or both common and reciprocal grafts.

**Common and reciprocal grafts techniques.** 25 plants were used for each type of commercial chili, which served as both rootstock and graft and, 75 of CM 334. In common grafts the bud of the CM-334 was eliminated, leaving only the cotyledons which are the guide to make the cut for the type of graft junction. A diagonal dissection of 45 degrees was made in the rootstock (Figure 1A, B) from the tip of the cotyledons downwards, dissecting the same way in the commercial peppers. In the reciprocal grafts, all three commercial types of peppers were used as a rootstock and, CM-334 was used as the graft. In all cases, the graft size was from 4 to 5 cm long and subject to the rootstock with a 4 mm caliper on both sides (Figure 1A).

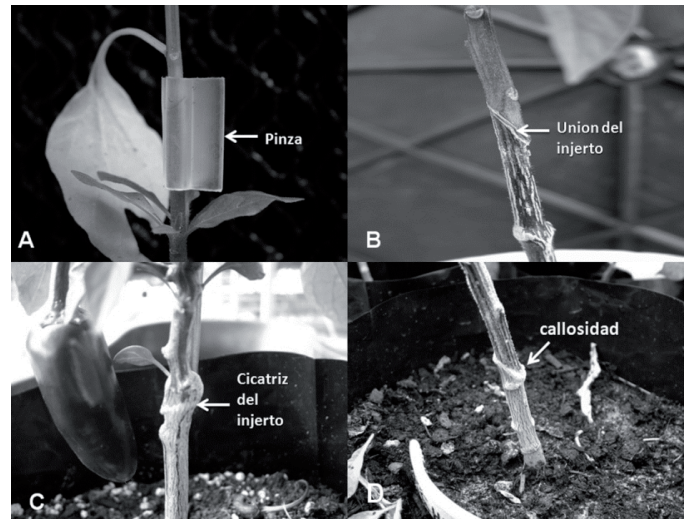
dejando sólo los cotiledones que son la guía para hacer el corte para el tipo de injerto de empalme. Se realizó una disección diagonal de 45 grados en el patrón (Figura 1A, B) comenzando por arriba de los cotiledones hacia abajo, disectando de la misma manera en los tipos de chiles comerciales. En los injertos recíprocos, los tres tipos de chiles comerciales fueron usados como patrón y el CM-334 fue usado como injerto. En todos los casos, el tamaño del injerto fue de 4 a 5 cm de largo y se sujeto al patrón con una pinza de 4 mm en ambas partes (Figura 1A).

Las plantas injertadas, se colocaron en un túnel de plástico con una temperatura de 28 °C y una humedad relativa de 80%, alcanzada con microaspersores, colocados en la parte más alta del túnel a 1.70 m. Se mantuvieron las plantas hasta 15 días para su unión, después fueron adaptadas gradualmente a condiciones de invernadero. Una vez aclimatadas las plantas injertadas, se transfirieron a una maceta de plástico (un galón de volumen) se regaron con agua suavizada y sin uso de fórmula fertilizadora. Diez días después, se evaluó el porcentaje de supervivencia de los injertos ensayados.

Se realizó un ANOVA para verificar si existían diferencias entre el grosor de los injertos comunes CM-334 como patrón y los tipos de chile comerciales como injerto y los injertos recíprocos (tipos de chiles comerciales como patrón y el CM-334 como injerto).

## Resultados y discusión

**Porcentaje de germinación de semillas de los tipos de chiles comerciales y del portainjerto.** El Cuadro 1 muestra los resultados obtenidos de la germinación de las semillas durante 8 días en los chiles comerciales, y en el portainjerto CM 334. La variedad Cayene fue la que germinó de manera más temprana contemplando 4% al tercer día. El CM 334 mostró la mayor tasa de germinación al cuarto y quinto y al sexto día, ésta se detuvo por completo quedando al final con 76%. A partir del sexto día el tipo Cayene fue el que presentó mayor porcentaje de germinación y se mantuvo hasta el octavo día. El menor porcentaje se observó en el tipo chilaca con 64%. La aparición de los cotiledones se verificó entre el quinto y sexto día.



**Figura 1. Injerto directo y recíprocos en tipos de chiles. A) el injerto directo del tipo de chile jalapeño en el patrón CM 334 sujetado con pinza de plástico de 4mm; B) apariencia de diámetros iguales entre el injerto directo tipo Jalapeño y el portainjerto CM-334. La flecha indica la unión del tejido del cambium en el punto de unión entre injerto directo del tipo jalapeño con el portainjerto, CM 334. Una leve formación de callo, es observado entre la unión del injerto; C) la flecha indica la cicatrización casi invisible y la unión completa del cambium entre el injerto directo del tipo jalapeño con el patrón CM 334; y D) La flecha indica formación de abundante callo (anillo blanco) justo alrededor de la unión del injerto recíproco: CM334 injertado en chile tipo jalapeño.**

**Figure 1. Direct and reciprocal graft types of chilies. A) Direct grafting of jalapeño chili on the rootstock CM 334, secured with 4mm plastic clips; B) appearance of equal diameters in the direct graft Jalapeño and the rootstock CM-334. The arrow indicates the junction of the cambium tissue at the junction between the direct grafts to the rootstock jalapeño, CM 334. A slight callus formation is observed between the graft's union; C) the arrow indicates the almost invisible scar and the complete union of cambium between the direct graft jalapeño with the rootstock CM 334; and D) The arrow indicates formation of abundant callus (white collar) just around the reciprocal graft union: CM334 grafted jalapeño.**

The grafted plants were placed in a plastic tunnel with a temperature of 28 °C and a relative humidity of 80% achieved with micro-sprinklers at the top of the tunnel at 1.70 m. The plants were maintained up to 15 days for their union,

**Cuadro 1. Porcentaje de germinación por día y germinación promedio de semillas de los tipos chile en 2010.**  
**Table 1. Germination per day and average seed germination rates of chili pepper, 2010.**

Tipos de chile	Días de germinación								(*) Aparición de cotiledones	
	1	2	3	4	5	6	7	8		(%) germinación
Jalapeño	0	0	0	6	20	24	56	70	70%	6
Chilaca	0	0	0	4	44	48	60	64	64%	6
Cayene	0	0	4	32	58	78	82	94	94%	5
CM 334	0	0	0	42	70	76	76	76	76%	6

\*número de días después de la germinación.

La diferencia en la tasa de germinación entre las variedades comerciales y el portainjerto CM334 podría producir una calidad desigual entre los materiales injertados, lo que influiría en el desarrollo asincrónico de las plantas injertadas (Acosta, 2005). Por lo que determinar la tasa de germinación de las semillas del portainjerto y del tipo de chile a utilizar como injerto, es de suma importancia ya que indica el número de semillas que se necesitarán si se quiere utilizar a nivel comercial. El tiempo que tardan las semillas en germinar es clave para coordinar labores básicas relacionadas a la técnica del injerto para uniformizar las características del diámetro, altura, número de hojas.

Una falta de sincronización en la germinación de los tipos de chile con los del portainjerto, repercute en diferencias en el desarrollo de las plantas a injertar, lo que dificultará la realización del injerto por la variación en el diámetro del tallo. La falta de uniformidad en la germinación en cada tipo de chile podría deberse al uso de semilla no certificada comercialmente ya que es tradición en algunos productores en la región, de seleccionar semillas al final de cada ciclo y usarlas en su próxima siembra.

Ésta actividad ocasiona el entrecruzamiento de las plantas a través el aire o por insectos que influye en la viabilidad de la semilla. Para mayor uniformidad en la germinación y crecimiento uniforme de las plántulas se recomienda hacer futuros estudios con semillas mejoradas certificadas. El tiempo de aparición del cotiledón y la verticalidad del tallo durante la germinación es indicativo de la buena calidad y vigor de la planta. El chile tipo Cayene fue superior 85% de uniformidad en el tamaño y exposición de los cotiledones, y la más baja se observó en el tipo Jalapeño. En el tipo chilaca, la biomasa de la raíz fue más abundante en crecimiento obstaculizando la exposición de los cotiledones.

Éste fenómeno retrasa la producción de plántulas en las cajas petri ya que la energía se invierte más en el desarrollo de la raíz que en el crecimiento de la parte aérea. El retraso

and then gradually adapted to greenhouse conditions. Once acclimated, the grafted plants were transferred to a plastic pot (one gallon in volume), watered with softened water and no fertilizer. Ten days later, we evaluated the survival rate of the grafts tested.

ANOVA was performed to verify if there were differences between the thickness of the common grafts CM-334 as rootstock and commercial chilies as grafts and reciprocal grafts (type of commercial chili as rootstock and, CM-334 as the graft).

## Results and discussion

**Seed germination percentage of the types of commercial peppers and rootstock.** The Table 1 shows the results of seed germination for 8 days in commercial peppers and rootstock in CM 334. Cayenne variety germinated the earliest, contemplating 4% on the third day. CM 334 showed the highest germination rate on the fourth and fifth day and, at the sixth day it completely stopped reaching at the end 76%. From the sixth day, Cayenne presented the highest percentage of germination and remained until the eighth day. The lowest percentage was observed in the type chilaca with 64%. The emergence of the cotyledons was observed between the fifth and sixth day.

The difference in the germination rate between the commercial varieties and rootstock CM 334 could result in uneven quality between the grafted materials, which influence the asynchronous development of the grafted plants (Acosta, 2005). So, to determining the germination rate of seeds of the rootstock and the type of chili to be used as a graft, it is extremely important as it indicates the number of seeds needed for commercial purposes. The time it takes

en la velocidad de crecimiento podría influir en la falta de la sincronía en la altura y el grosor del tallo. Una relativa uniformidad entre la biomasa de la parte aérea y la de la raíz, nos indica un incremento de plantas útiles y la alta sobrevivencia al trasplante con más oportunidad de sincronía entre el patrón y el injerto.

Otro aspecto importante que se estudio fue la supervivencia al trasplante a raíz desnuda a tan temprana edad. En esta etapa, las plántulas crecidas en cajas petri por 8 días respondieron en forma diferente al estrés del trasplante en condiciones de invernadero. Sin embargo, el tamaño y el desarrollo normal de la parte aérea y de las raíces son críticos en su supervivencia.

En este estudio las plántulas de 3 cm de altura y una raíz principal desnuda de 3-4 cm de longitud sufrieron un cambio brusco ya que la temperatura era de 29 °C y la humedad de 15% por lo que hasta después de 10 días se estudiaron los primeros indicios de crecimiento y se evaluó el porcentaje de supervivencia. El tipo Cayene fue superior 94% de supervivencia seguido del tipo jalapeño con 91% el tipo Chilaca y el CM334 que obtuvieron 88 y 89% respectivamente. Por lo que puede considerarse que la supervivencia en general fue bastante buena.

### **Desarrollo de plantas después del trasplante y sincronización de los tallos para los injertos comunes y recíprocos.**

También se detectó un desarrollo diferente en cada una de los chiles. En el Cuadro 2 se percibió que el desarrollo del tallo después de los 37 días del trasplante, en los chiles tipo Jalapeño y Chilaca, fue uniforme, ya que presentaron el mismo grosor, alcanzando las plantas una altura aproximada de 15 cm, con 6 a 8 hojas y sin ramificaciones, mientras en el tipo Cayene, el desarrollo fue más rápido, alcanzando hasta 20 cm de altura. En el caso del portainjerto CM 334 fue el que alcanzo la mayor altura (25 cm) y cuenta con un mayor número de hojas y ya tenía 3 ramificaciones. En el Cuadro 2 se muestran los diámetros promedio de los tallos alcanzados por las plántulas del chile tipo Cayene, al momento del injerto.

Respecto a los injertos comunes, el grosor de los tallos mostro que existen diferencias altamente significativas con una  $p \leq 0.05$ , de igual manera, para los injertos recíprocos, el ANOVA reflejó diferencias altamente significativas con una  $p \leq 0.05$  para la variable grosor de tallos. Al comparar los grosores de los tallos, con la prueba de Tukey, entre Cayene y CM334 se observaron diferencias estadísticamente significativas.

for the seeds to germinate is critical to coordinate basic tasks related to the grafting technique to standardize the characteristics of diameter, height and, leaf number.

A lack of synchronization in the germination of chili with the rootstock has an impact on differences in the development of the grafted plants, which hinder the realization of the graft by the variation in the stem's diameter. The lack of uniformity of germination in each type could be due to the use of uncertified commercial seed as it is tradition in some producers in the region to selecting seeds at the end of each cycle and use them in the next planting season.

This activity causes the crosslinking of the plants through the air or by insects that affect the viability of the seed. For more uniform germination and seedling growth even recommended to do further studies with improved seeds certified. The time of appearance of the cotyledon and stem verticality during germination is indicative of good quality and plant vigor. Cayenne was 85% greater uniformity in the size and exposure of the cotyledons, and the lowest rate was observed in jalapeño. In chilaca, the biomass of the root growth was more abundant in hindering the exposure of the cotyledons.

This phenomenon slows the production of seedlings in petri dishes because more energy is invested in the development of the root growth of the shoot. The delay in growth rate could affect the lack of synchrony in height and the stem's diameter. A relative uniformity between the biomass of the shoots indicates an increase of useful plants and high survival to transplantation with a better chance of synchrony between the stock and the scion.

Another important aspect studied was the survival to transplant bare-root at an early age. At this stage, seedlings grown in petri dishes for 8 days responded differently to the stress of transplanting in the greenhouse. However, the size and normal development of aerial parts and roots are critical for survival.

In this study, seedlings 3 cm in high and a naked taproot 3-4 cm long suffered an abrupt change as the temperature was 29 °C and humidity of 15%, so after 10 days the first signs of growth were studied and the survival rate assessed. Cayenne was higher, 94% of survival rate followed with 91% of jalapeno and chilaca type and CM334 with 88 and 89% respectively. The overall survival was good enough.

**Cuadro 2. Promedios grosor de los tallos de 25 plantas usadas en injertos comunes y recíprocos de chiles Cayene, jalapeño, chilaca y Criollo Morelos 334 a los 37 días después del trasplante.****Cuadro 2. Promedios grosor de los tallos de 25 plantas usadas en injertos comunes y recíprocos de chiles Cayene, jalapeño, chilaca y Criollo Morelos 334 a los 37 días después del trasplante.**

Tipo injerto	Patrón/injerto	Núm. de plantas	Grosor de tallo (mm)*
Común	CM-334	25	2.89 ± 0.32 b
	Cayene	25	3.32 ± 0.35 a
Recíproco	Cayene	25	2.98 ± 0.38 b
	CM-334	25	2.24 ± 0.32 c
Común	CM-334	25	2.58 ± 0.25 a
	Jalapeño	25	2.82 ± 0.21 a
Recíproco	Jalapeño	25	2.29 ± 0.29 b
	CM-334	25	2.28 ± 0.32 b
Común	CM-334	25	2.13 ± 0.23 a
	Chilaca	25	2.08 ± 0.29 a
Recíproco	Chilaca	25	1.94 ± 0.21 a
	CM-334	25	2.03 ± 0.21 a

\*media y desviación estándar. Medias con la misma letra en las comparaciones entre injerto común y recíproco no hay diferencias significativas al  $p \leq 0.05$  de acuerdo a la prueba de Tukey.

En el Cuadro 2 refleja que el mayor grosor fue para el injerto común con 3.32mm y el Cayene como injerto superó al patrón CM 334 que alcanzó 2.89 mm. En el injerto recíproco de CM 334 se examinó el promedio más pequeño de 2.24 cms, siendo estadísticamente diferente al resto de los materiales ensayados. Con los injertos comunes entre CM334 como patrón y jalapeño como injerto, no hubo ninguna diferencia estadística significativa con  $p \leq 0.05$ . En el injerto recíproco jalapeño patrón y CM 334 injerto, tampoco se observó una diferencia estadística significativa, alcanzando promedios de grosor de tallo de 2.29 mm y 2.28 mm para cada uno.

En cambio los valores de los injertos comunes sí fueron diferentes estadísticamente a los recíprocos, tal como se indica en el Cuadro 2. Para el grosor del tallo de los injertos comunes y recíprocos entre CM 334 (patrón) y chilaca (injerto), la prueba de Tukey no detectó diferencias estadísticas entre los cuatro genotipos, por lo que los promedios resultaron estadísticamente iguales (Cuadro 2). Estos resultados nos muestran que el chile tipo jalapeño y el tipo chilaca tienen similitud en cuanto al grosor de tallos tanto para la técnica de injertos comunes como para los injertos recíprocos con el patrón CM334.

**Plant growth after transplantation and timing of the stems for common and reciprocal grafts.**

We also detected a different development in each of the peppers. In the Table 2, it was felt that the development of stems 37 days after transplantation for Jalapeño peppers and Chilaca was uniform, as they showed the same thickness, reaching a height of plants about 15 cm, with 6 to 8 leaves and un-branched, while Cayenne's development was even faster, reaching 20 cm in height. In the case of CM 334 rootstock, it was the only one that reached the greatest height (25 cm) and has a greater number of leaves and 3 branches. The Table 2 shows the average diameters of the stems reached by Cayenne's seedlings at the time of grafting.

Regarding the common grafts, the thickness of the stems showed that there are significant differences at  $p \leq 0.05$ , similarly to the reciprocal grafts, ANOVA reflected significant differences at  $p \leq 0.05$  for the variable thickness of the stems. By comparing the thickness of the stems, with the Tukey test between Cayenne and CM334 were statistically significant differences.



En contraste el chile tipo Cayene, mostró una alta desproporción en el grosor de tallos. Por lo que la realización del injerto en el tipo de chile Cayene presenta mayor dificultad e inversión de tiempo. Shirai y Hagimori (2004) afirmaron que la diferencia en diámetro entre el patrón e injerto causó la más baja tasa de supervivencia durante la aclimatación en plantas injertadas de pimienta. El injerto sufre defoliación causado por la deficiencia de traslocación de agua entre los tallos.

**Desarrollo de los Injertos comunes y recíprocos.** La Figura 1 A, B, C, muestra los injertos comunes del tipo de chile jalapeño comercial en el patrón CM 334 y el recíproco, CM 334 injertado en el patrón de chile jalapeño (Figura D). Al realizar el corte en ambos tallos, se observó la liberación de savia al momento de la disección de los tallos tanto del patrón como del injerto la cual fue liberada inmediatamente después del corte. Este primer fenómeno de respuesta fue crucial en la unión de los tejidos para mantener turgentes y funcionales las células afectadas (Acosta, 2005). De esta manera los haces vasculares se reconectarían para conservar la traslocación de las sustancias en ambos individuos. De acuerdo con Jin et al. (2006) y Lee et al. (2010) las condiciones ambientales, especialmente la humedad relativa entre 90 y 100% es un factor importante en evitar la pérdida de agua por evapotranspiración.

De esta manera la pérdida de agua por el injerto fue minimizada permitiéndoles a las hojas conservar la humedad durante los 15 días dentro del túnel, tal como lo muestra la Figura A. La humedad ambiental permitió la mínima apertura de las estomas en las hojas del injerto, lo que evitó la desecación de la savia en la unión de ambos tallos, lográndose así el contacto entre sus células. Otro punto crucial en la unión de los injertos es la aproximación de los grosores de los tallos, ya que si estos no son uniformes la unión del injerto se dificulta (Figura 1 A, B, C y D).

Este contacto fue auxiliado por el clip de plástico de 4 mm que sujetaba a ambos tallos para mantenerse erectos hasta la cicatrización de los tejidos (Figura 1 A). Una semana después se observó la formación de callosidad que es producto de la división celular para evitar la pérdida de savia que trae como consecuencia el proceso de la cicatrización. La formación de callo, nos indica que se produjeron células parenquimatosas que se entremezclan formando tejido que se diferencia en nuevas células de cambium que producirán nuevo tejido vascular que se traduce en el éxito del injerto (Figura 1B). En el injerto

The Table 2 shows that, the thicker was the common graft with 3.32 mm and Cayenne as a graft exceeded the rootstock CM 334, which reached 2.89 mm. In the reciprocal graft CM 334 is considered the smallest average of 2.24 cm, being statistically different from the rest of the materials tested. With the common grafts with CM334 as rootstock and jalapeno as a graft, there was no statistically significant difference at  $p \leq 0.05$ . In the reciprocal graft, jalapeño as the graft and CM 334 as the rootstock was also observed a statistically significant difference, reaching average stem thickness of 2.29 mm and 2.28 mm for each.

On the other hand, the common values of the grafts were statistically different to the reciprocal, as shown in Table 2. For the stem's diameter of the common and reciprocal grafts between CM 334 (rootstock) and chilaca (graft), Tukey's test detected no statistical differences among the four genotypes; so that the averages were statistically equal (Table 2). These results show that jalapeño and chilaca have similarities in the thickness of stems for both, the common grafting technique and the graft CM334 reciprocal rootstock.

In contrast, Cayenne showed a high disparity in the thickness of the stems. So the realization of the graft in Cayenne is more difficult and need more time to invest. Shirai and Hagimori (2004) stated that the difference in diameter between the rootstock and the graft caused the lower survival rate during acclimatization in grafted plants of chili pepper. The graft suffered defoliation caused by a deficiency of translocation of water between the stems.

**Common and reciprocal grafts development.** The Figure 1 A, B, C, show the common grafts of jalapeno in the reciprocal rootstock CM334 and CM 334 grafted in jalapeno rootstock (Figure D). When cutting on both stems, there was the release of sap at the time of dissection of the stems of both the rootstock and the graft, which was released immediately after cutting. This first response was a crucial phenomenon at the junction of the tissues, keeping cells turgid and affecting its function (Acosta, 2005). Thus, the vascular bundles are reconnected in order to preserve the translocation of substances in both individuals. According to Jin *et al.* (2006) and Lee *et al.* (2010) environmental conditions, especially the relative humidity between 90 and 100% is an important factor for preventing water loss through evapotranspiration.

In this way, the loss of water through the graft was minimized by allowing the leaves to retain moisture during the 15 days in the tunnel, as shown in Figure A. The low humidity

reciproco de chilaca como patrón y CM 334 como injerto se observó más formación de callo (Figura 1D) que en la unión de los injertos comunes (Figura 1 B).

En contraste, en estudios realizados en Japón, el fracaso del injerto pimiento se debió a la baja tasa de formación de callos comparado con el injerto exitoso relacionado a la alta formación de callo en tomate y berenjena (Johkan *et al.*, 2008). Sin embargo, Johkan *et al.* (2008) encontraron que la baja tasa de supervivencia en plantas de chiles injertadas de pimiento de 44%, se le atribuyó a la pobre diferenciación y conexión vascular causada por su baja tasa de formación de callo. Acosta (2005) afirma que para que la unión del injerto sea exitosa se necesitan ciertas condiciones ambientales que favorezcan la formación del callo. Por ejemplo, son esenciales una temperatura de 25 a 27 °C, una humedad relativa de 80 a 100%, un ambiente rico en oxígeno y finalmente que el patrón muestre actividad de crecimiento ya que éste inicia la formación del callo al disminuirse la producción de fitohormonas.

El éxito del injerto fue expresado en 90% de supervivencia en todos los chiles donde la mortandad (10%) no fue por falta de compatibilidad entre el patrón y el injerto, sino más bien se le atribuyó al exceso de humedad acumulada en las macetas. La falta de atomización del sistema de la red de emisión de agua que controlaba la humedad relativa en el túnel provocó la acumulación de agua libre tanto en las macetas como en las charolas lo que causó la muerte de las plantas por falta de oxigenación en la raíz; sin embargo, se encuentra dentro de los rangos mundiales.

Por ejemplo, en España el prendimiento promedio es 90% con el injerto de aproximación y entre 60 y 70% con la técnica de púa (Rojas y Rivero, 2002). Rojas y Rivero (2001). Los resultados de supervivencia son muy variados dependiendo del genotipo, la técnica y la habilidad del injertador. Rojas y Rivero (2001) observaron un porcentaje de supervivencia de dos variedades de melón (*Cucumis melo* var. *reticulatus* y var. *inodorus*) injertados por diferentes técnicas como la aproximación, empalme y de púa 82.5, 70 y 32.5% respectivamente. Lee (1994) y Acosta (2005) reportan que el éxito del injerto está influenciado por la alta afinidad y compatibilidad entre las especies injertadas. Es decir, la savia debe ser análoga en cuanto a cantidad y constitución y también que los haces conductores de las dos plantas que se unen tengan aproximadamente igual número de células y diámetros semejantes de tallos, coincidiendo lo anterior con lo reportado en el presente estudio.

allowed the opening of the stomata in the leaves of the graft, thereby preventing the draining of the sap at the junction of two stems, thus achieving contact between the cells. Another crucial point in the union of the graft is to approximate the thickness of the stems, because if these are not uniform, binding of the graft is quite difficult (Figure 1 A, B, C and D).

This contact was helped by the plastic 4 mm clip that held on both stems to remain erect until healing of the tissues (Figure 1 A). A week later we observed the formation of callus that results from cellular division to prevent loss of sap which results in the healing process. Callus formation, indicates that there were parenchymal cells intermingle forming tissue into new cambium cells that produce new vascular tissue which results in the success of the graft (Figure 1B). In the reciprocal graft, chilaca as the rootstock and CM 334 as graft observed more callus formation (Figure 1D) than in the union of the common grafts (Figure 1 B).

In contrast, studies in Japan, pepper graft failure was due to the low rate of callus formation compared with successful graft related to the high formation of callus in tomato and eggplant (Johkan *et al.*, 2008). However, Johkan *et al.* (2008) it was found that, the low survival rate of grafted plants of chili pepper of 44% was attributed to a poor differentiation and vascular connection, due to its low rate of callus formation. Acosta (2005) states that, for the graft union to be successful, it requires certain environmental conditions that favor the formation of the callus. For example, critical temperature from 25 to 27 °C, a relative humidity 80 to 100%, an environment rich in oxygen and finally shows that, the growth activity of the rootstock as it starts to shoot formation from callus production of phytohormones.

The success of grafting was expressed in 90% survival in all chilies, where the mortality (10%) was not for lack of compatibility between the rootstock and the graft, but rather it's attributed to the excess of moisture accumulated in the pots. The lack of atomization of the network system for the water emission controlling the relative humidity in the tunnel caused accumulation of free water in the pots, causing the death of plants due to lack of oxygenation in the root; however, it lies within regular ranges.

For example, in Spain the average 90% grafting with grafting approach and between 60 and 70% with the plectrum technique (Rojas and Rivero, 2002). The survival results

Para estudios futuros, el CM334 como un portainjerto resistente a *P. capsici* podría ser parte del programa de manejo integrado para controlar este patógeno del suelo en estos tipos de chiles comerciales. El injerto recíproco puede utilizarse para estudiar genes asociados con procesos de señales a distancia capaces de moverse de la raíz al brote como floración, resistencia sistémica y respuestas a estrés abiótico. El sistema de injerto puede contribuir a reemplazar el uso del bromuro de metilo que es usado para controlar enfermedades del suelo y que es altamente tóxico para la microbiota (Anaya-López *et al.*, 2011) y con esta técnica, se ofrece una solución amigable con el medio ambiente.

## Conclusiones

La alternativa de siembra en cajas petri en condiciones de laboratorio ayuda a que sea más eficiente el uso de semilla, ya que se acelera la germinación, se seleccionan las plántulas más vigorosas y con tamaño uniforme con el propósito de aumentar la sincronización en el grosor de los tres tipos de chiles como injertos con el portainjerto. El grosor del tallo del criollo Morelos (CM 334) fue más compatible con el chile tipo jalapeño y con el tipo chilaca y fue muy distante con el grosor del tallo del tipo de chile Cayene. La unión del injerto común y recíproco fue un éxito. La formación de callo abundante entre la unión de los injertos ensayados mostró buena aptitud y afinidad para estar relacionada a la conexión firme del cambium con el patrón.

## Literatura citada

- Acosta, A. 2005. La técnica del injerto en plantas hortícolas. Viveros extra. Horticultura Internacional. Barcelona, España. 62-65 pp.
- 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. y Torres-Pacheco, I. 2011. Selección de genotipos de chiles resistentes al complejo patogénico de la marchitez. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 2(3):373-383.
- Colla, G.; Roupheal, Y.; Cardarelli, M.; Salerno, A. and Rea, E. 2010a. The effectiveness of grafting to improve alkalinity tolerance in watermelon. *Environ. Exp. Bot.* 68:283-291.

are varied depending on genotype, technique and the skill of the grafter. Rojas and Rivero (2001) observed a survival rate of two varieties of melon (*Cucumis melo* var. *Reticulatus* and var. *Inodorus*) grafted by different techniques such as approximation, joint and barb 82.5, 70 and 32.5% respectively. Lee (1994) and Acosta (2005) reported that, the success of the graft is influenced by the high affinity and compatibility between the grafted species. That is, the sap must be similar in amount and constitution and the vascular bundles of the two plants have approximately equal number of cells and stem diameters, similar to coincide this with those reported in this study.

For future studies, CM334 as the rootstock resistant to *P. capsici* could be part of integrated management program to control this soil-borne pathogen in these commercial chilies. The reciprocal graft can be used to study genes associated with signal processing capable of moving distance from the roots to the shoot, such as flowering, systemic resistance and abiotic stress responses. The implant system can help to replace the use of methyl bromide used to control soil diseases and, is highly toxic to the microbiota (Anaya-López *et al.*, 2011) and this technique provides an amicable solution with the environment.

## Conclusions

The alternative seeding in Petri dishes under laboratory conditions helps to make more efficient the use of the seeds, since it accelerates the germination of seedlings, vigorous seedlings are selected and with uniform size in order to increase the synchronization of thickness of the three types of peppers as grafting rootstocks. The thickness of the stem Criollo de Morelos (CM 334) was more compatible with jalapeno and chilaca, and quite distant with the stem diameter of Cayenne. The graft union was a common and mutual success. Abundant callus formation between the unions of the grafts tested showed good ability and affinity to be related to the firm connection with the rootstock's vascular cambium.

*End of the English version*



- Colla, G.; Suárez, C. M. C.; Cardarelli, M. and Roupheal, Y. 2010b. Improving nitrogen use efficiency in melon by grafting. *HortScience.* 45:559-565.

- Fernández-Pavía, S. P. and Liddel, C. M. 1998. Lack of evidence for translocation of resistance factors between roots and foliage of *Capsicum annuum* infected by *Phytophthora capsici*. *Capsicum and Eggplant. Newsletter*. 17:66-68.
- García-Rodríguez, M. A.; Chiquito-Almanza, E.; Loeza-Lara, P.D.; Godoy-Hernández, H.; Villordo-Pineda, E.; Pons-Hernández, J. L.; González-Chavira, M. M. y 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.
- Guigón, C. y González, P. A. 2001. Estudio regional de las enfermedades del chile (*Capsicum annuum* L.) y su comportamiento temporal en el Sur de Chihuahua, México. *Rev. Mex. Fitopatol.* 19(1):49-56.
- Hartmann, H. T.; Kester, D. E.; Davies, F. T. and Geneve, R. L. 1997. *Plant propagation*. Ed. Prentice Hall. USA. 873 p.
- Jin, S.; Liang, S.; Zhang, X.; Nie, Y. and Guo, X. 2006. An efficient grafting system for transgenic plant recovery in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 85:181-185.
- Johkan, M.; Oda, M. and Mori, G. 2008. Ascorbic acid promotes graft-take in sweet pepper plants (*Capsicum annuum* L.). *Sci. Hortic.* 116:343-347.
- King, S. R.; Davis, A. R.; Zhang, X. and Crosby, K. 2010. Genetics, breeding and selection of rootstock for solanaceae and cucurbitaceae. *Sci. Hortic.* 127:106-111.
- Lee, J. 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-Echeverría, P.; Morra, L.; and Oda, M. 2010. Current status of vegetable grafting: Diffusion, grafting techniques, automation. *Sci. Hortic.* 127:93-105.
- Louws, F. J.; Rivard, C. L. and Kubota, C. 2010. Grafting fruiting vegetables to manage soilborne pathogens, foliar pathogens, arthropods and weeds. *Sci. Hortic.* 127:127-146.
- Oda, M. 1995. New grafting methods for fruit bearing vegetables in Japan. *Japan Agricultural Research Quarterly*. 29:187-194.
- Rico-Guerrero, L.; Medina-Ramos, S.; Muñoz-Sánchez, C. I.; Guevara-Olvera, L.; Guevara-González, R. G.; Guerrero-Aguilar, B. Z.; Torres-Pacheco, I. y Rodríguez-Guerra, R. 2004. Detección de *Phytophthora capsici* Leonian en plantas de Chile (*Capsicum annuum* L.) mediante PCR. *Rev. Mex. Fitopatol.* 22:1-6.
- Rojas, P. L. y Riveros, B. F. 2001. Efecto del método y edad de las plántulas sobre el prendimiento y desarrollo de injertos y melón (*Cucumis melo*). *Agríc. Téc. Chile*. 61(3):262-274.
- Rojas, P. L. y Riveros, B. F. 2002. Prendimiento de injertos en hortalizas. *Terra Adentro*. 45:30-31.
- Sakata, Y.; Ohara, T. and Sugiyama, M. 2007. The history and present state of the grafting of cucurbitaceous vegetable in Japan. *Acta Hortic.* 731:159-170.
- Sakata, Y.; Ohara, T. and Sugiyama, M. 2008. The history of melon and cucumber grafting in Japan. *Acta Hortic.* 767:217-228.
- Santos, H. A. and Goto, R. 2004. Enxertia em plantas de pimentão no controle da murcha de fitoftora em ambiente protegido. *Horr. Bras.* 22:45-49.
- Schwarz, D.; Roupael, Y.; Colla, G. and Venema, J. H. 2010. Grafting as a tool to improve tolerance of vegetables to abiotic stresses: thermal stress, water stress and organic pollutants. *Sci. Hortic.* 127:162-171.
- Shirai, T. and Hagimori, M. 2004. Studies in establishment of transplant production methods of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) by grafting shoots harvested from mother plants: effects of healing conditions of graft on the rate and quality of successful union. *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 73:380-385.
- Turnbull, C. G. N.; Broker, J. P. and Leyser, H. M. O. 2002. Micrografting techniques for testing long-distance signalling in *Arabidopsis*. *Plant J.* 32:255-262.
- Vernooij, B.; Friedrich, L.; Morse, A.; Reist, R.; Kolditz-Jawhar, R.; Ward, E.; Uknes, S.; Kessmann, H. and Ryals, J. 1994. Salicylic acid is not the translocated signal responsible for inducing systemic acquired resistance but is required in signal transduction. *Plant Cell*. 6:959-965.
- Zhao, X.; Guo, Y.; Huber, D. J. and Lee, J. 2011. Grafting effects on postharvest ripening and quality of 1-methylcyclopropene-treated muskmelon fruit. *Sci. Hortic.* 130:581-587.