

**Centro de Investigación Científica y de Educación
Superior de Ensenada, Baja California**



**Maestría en Ciencias
Ciencias de la Vida
orientación en Biología Ambiental**

**Variación en la tolerancia al daño mecánico foliar y resistencia
contra herbívoros en chiles domesticados y su pariente
silvestre *Capsicum annum* var. *glabriusculum***

Tesis

para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de
Maestra en Ciencias

Presenta:

Edlin Atziri Valenzuela Apodaca

Ensenada, Baja California, México
2019

Tesis defendida por
Edlin Atziri Valenzuela Apodaca

y aprobada por el siguiente Comité

Dra. Maria Clara Arteaga Uribe
Co-Directora de tesis

Dr. Rafael Bello Bedoy
Co-Director de tesis

Dra. Jimena Carrillo Tripp

Dr. Ernesto García Mendoza



Dra. Patricia Juárez Camacho
Coordinadora del Posgrado en Ciencias de la Vida

Dra. Rufina Hernández Martínez
Directora de Estudios de Posgrado

Resumen de la tesis que presenta **Edlin Atziri Valenzuela Apodaca** como requisito parcial para la obtención del grado de Maestra en Ciencias en Ciencias de la Vida con orientación en Biología Ambiental.

Variación en la tolerancia al daño mecánico foliar y resistencia contra herbívoros en chiles domesticados y su pariente silvestre *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*

Resumen aprobado por:

Dra. María Clara Arteaga Uribe
Co-Directora de tesis

Dr. Rafael Bello Bedoy
Co-Director de tesis

La domesticación ha cambiado drásticamente el fenotipo de las plantas cultivadas. La evidencia predice que la historia de vida y los caracteres morfológicos difieren entre plantas domesticadas y sus parientes silvestres. En relación a la defensa contra herbívoros, se espera que las plantas cultivadas muestren una disminución en la resistencia y tolerancia a herbívoros en relación con sus parientes silvestres, debido a una reducción en la fuerza de selección hacia estos caracteres. Examinamos si la resistencia y tolerancia disminuye entre plantas cultivadas de chile serrano y poblano, en relación con el chile silvestre chiltepín. Para examinar la tolerancia realizamos daño mecánico artificial en 0%, 25% y 50% de las hojas. La tolerancia se midió como la tasa relativa de crecimiento (TRC), contenido de clorofila y asignación a reproducción. La resistencia se midió como el contenido total de fenoles, densidad de tricomas y la sobrevivencia y desempeño de un herbívoro. Las plantas de chile silvestre no mostraron cambios entre los tratamientos en las medidas de tolerancia, indicando una tolerancia total, mientras que las plantas con daño de 50% declinaron heterogéneamente en la TRC y en la biomasa frutal en plantas de serrano y poblano, respectivamente. La resistencia fue mayor en las plantas silvestres que en las domesticadas. Las larvas alimentadas con la variedad silvestre tuvieron 0% de sobrevivencia, mientras que en las plantas domesticadas el 73.33% de las larvas sobrevivió. Una reducción en el contenido total de fenoles se observó en las plantas con 50% de daño de la variedad silvestre y en chile poblano. La densidad de tricomas aumentó solamente en las plantas de chile serrano con 50% de daño. En general, la resistencia y tolerancia fue mayor en las plantas silvestres, que en las domesticadas, apoyando la noción de que la domesticación reduce la defensa de las plantas.

Palabras clave: chile serrano, chile poblano, *Spodoptera frugiperda*, sobrevivencia, desempeño.

Summary of the thesis presented by **Edlin Atziri Valenzuela Apodaca** as a partial requirement to obtain the Master of Science degree in Master in Life Sciences with orientation in Environmental Biology.

Variation in tolerance to mechanical foliar damage and resistance to herbivory in domesticated chili pepper and their wild relative *Capsicum annuum* var. *glabrusculum*

Summary approved by:

Maria Clara Arteaga Uribe PhD
Co-Director

Rafael Bello Bedoy PhD
Co-Director

Domestication has drastically changed phenotype of cultivated plants. Evidence indicates that life-history and morphological traits differ between domesticated and wild relatives. In relation to defense to herbivores, cultivated plants are expected to show lower resistance and tolerance to herbivores than wild relatives, because of a reduction in the strength of selection on these traits. We examined whether resistance and tolerance decreased in cultivated chilies serrano and poblano, in relation to wild chiltepín chili. To examine tolerance, we inflicted damage of 0%, 25% and 50% on leaves of wild and domesticated chilies. Tolerance was quantified as relative growth rate (*RGR*), chlorophyll and reproductive biomass allocation. Resistance measurements were leaf total phenolic content, trichomes density and survival and performance of an herbivore larval. Wild chili showed no changes between treatments on tolerance traits indicating full tolerance, whereas plants with 50% damage declined heterogeneously on *RGR* and fruit biomass on serrano and poblano plants, respectively. Resistance was higher in wild than in cultivated varieties. Larvae fed with wild chili leaves had a 0% survival, while a 73.33% survival was found on larvae fed with domesticated varieties. A reduction of total phenolic content was observed on 50% damaged plants of wild and poblano chili. Leaf trichome density increased only in serrano with 50% damage. Overall, resistance and tolerance were higher in the wild than in the cultivated chilies, supporting the notion that domestication reduces plant defense.

Key words: serrano chili, poblano chili, *Spodoptera frugiperda*, survival, performance.

Dedicatoria

A mi nana y mi madre

Ustedes son mis raíces y me han ayudado a florecer,
todos mis logros son para ustedes.

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el financiamiento otorgado al proyecto: “Variación genética de la defensa constitutiva e inducida contra herbívoros y patógenos en chile silvestre *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*” (Clave: 255631), así como por el apoyo económico que me otorgó para que pudiera realizar mis estudios (CVU: 845698).

Al Centro de Investigación Científica y de Estudios Superiores de Ensenada (CICESE) y al posgrado en Ciencias de la Vida por darme la oportunidad de realizar este trabajo, así como el apoyo económico para finalizar la escritura de mi tesis y por supuesto a Adriana Mejía, por toda la ayuda.

Agradezco a mi directora de tesis, la Dra. María Clara Arteaga, por su apoyo y consejos durante mi trabajo de tesis. Porque en el estrés de los avances, sus comentarios siempre fueron ese algo que me faltaba para creerme la importancia y todo lo bonito de este trabajo; espero que se refleje en el resultado final.

Especialmente agradecer al Dr. Rafael Bello, mi director de tesis, por haberme invitado a ser parte de su laboratorio hace ya cinco años y por todo lo que hemos aprendido durante este proceso. Por ser mi guía y ejemplo de lo que es la pasión desenfadada por la ciencia. Porque me enseñó a esforzarme, pero sobre todo a disfrutar los frutos de mi trabajo. Por las pláticas, consejos y la amistad, gracias.

A mis sinodales la Dra. Jimena Carrillo y el Dr. Ernesto García, gracias por su tiempo, por sus comentarios y por los debates en las reuniones, por ayudar a que este trabajo mejorara.

A Cipatli y Diego, por la confianza, apoyo y amistad que me ha brindado estos dos años. A mis compañerxs del departamento de Biología de la conservación, Ketzaly, Ariadna, Rocío y Eric.

A mis compañerxs del Laboratorio de Genética Ecológica y Evolución (UABC); Eva, Dani, Peiro, Carlitos y Carlos por el apoyo en mis tomas de datos; gracias por ensuciarse las manos conmigo y contribuir en mi trabajo. También agradezco a Judi por su ayuda en la cuantificación de fenoles. Especialmente a Roberto Cortés y Carlo González, quienes más me apoyaron en esos días de trabajo arduo en el invernadero y en quienes rápidamente encontré una bonita amistad, gracias amix.

A mis amigas Melisa e Izamar, porque honestamente sin su apoyo esta tesis no se hubiera podido finalizar. Gracias por estar para mí siempre, por sus palabras, su compañía y su amistad, las amo por siempre y para siempre bebés. A Stephanie, por leerme, escucharme y hacerme sentir bien. A mis amigas y compañeras de lucha las siemprevivas, sigamos construyendo juntas.

A mi mamá y a mi nana; mi familia, quienes han sido siempre las que me echan más porras y que siempre han creído en mí. Gracias por aceptar nuestras diferencias y respetar mi camino, son lo más importante de mi vida y agradezco que el día de hoy pueda llamarlas mis amigas. A Damir, mi sobrino, por ser ese rayito de luz que ilumina mis domingos.

A mí y a todas las personas que de una u otra forma han contribuido en este trabajo, que ha sido mi vida por los últimos dos años.

Tabla de contenido

	Página
Resumen en español.....	ii
Resumen en inglés.....	iii
Dedicatorias.....	iv
Agradecimientos.....	v
Lista de figuras.....	viii
Lista de tablas.....	ix
Capítulo 1. Introducción.....	1
1.1 Antecedentes.....	6
1.2 Objetivos.....	8
1.2.1 Objetivo general	8
1.2.2 Objetivos específicos.....	8
Capítulo 2. Metodología.....	9
2.1 Sistema de estudio.....	9
2.2 Plantas, insectos y condiciones de crecimiento.....	9
2.3 Diseño experimental.....	10
2.4 Tolerancia al daño mecánico foliar.....	11
2.4.1 Tasa Relativa de Crecimiento (<i>TRC</i>).....	12
2.4.2 Medidas foliares.....	12
2.4.3 Índice de Contenido de Clorofila.....	12
2.4.4 Variables de reproducción.....	12
2.5 Resistencia.....	13
2.5.1 Lignificación.....	13
2.5.2 Densidad de tricomas.....	13
2.5.3 Fenoles totales.....	13
2.6 Resistencia relativa a herbívoros.....	14
2.7 Análisis estadístico.....	15
2.7.1 Modelo de regresión cuadrático.....	15
2.7.2 Análisis de varianza.....	15
2.7.3 Chi-Cuadrada.....	16

Capítulo 3. Resultados	17
3.1 Tolerancia al daño mecánico foliar.....	17
3.1.1 Tasa Relativa de Crecimiento (<i>TRC</i>).....	17
3.1.2 Medidas foliares.....	18
3.1.3 Índice de Contenido de Clorofila.....	19
3.1.4 Variables de reproducción.....	19
3.2 Resistencia.....	21
3.2.1 Lignificación.....	21
3.2.2 Densidad de tricomas.....	21
3.2.3 Fenoles totales.....	22
3.3 Resistencia relativa a herbívoros.....	22
Capítulo 4. Discusión	24
4.1 Tolerancia.....	24
4.2 Resistencia.....	27
Capítulo 5. Conclusiones	30
5.1 Perspectivas.....	30
Literatura citada	32
Anexos	41

Lista de figuras

Figura		Página
1	Tasa Relativa de Crecimiento en la altura y ancho del tallo principal.....	17
2	Medidas foliares.....	18
3	Variables de reproducción.....	20
4	Tasa Relativa de Crecimiento en la lignificación del tallo principal (cm x día).....	21
5	Densidad de tricomas la cara abaxial y contenido total de fenoles foliares.....	22
6	Sobrevivencia de <i>Spodoptera frugiperda</i> a la ingesta de tejido foliar.....	23
7	Frutos de chile poblano con diferente desarrollo.....	43
8	Frutos de chile serrano con diferente desarrollo.....	44
9	Tricomas foliares en plantas de chile silvestre y domesticado.....	44

Lista de tablas

Tabla		Página
1	Efectos del tratamiento de daño foliar en plantas de chile silvestre chiltepín y domesticados serrano y poblano.....	41
2	Coeficiente de variación y varianza de los tratamientos de daño foliar en plantas de chile silvestre y domesticado.....	42
3	Efectos de la alimentación con plantas de chile silvestre chiltepín y domesticado serrano y poblano.....	43

Capítulo 1. Introducción

El fenotipo de las plantas cultivadas ha cambiado drásticamente a través del tiempo en respuesta a presiones selectivas. Principalmente, se han adaptado en respuesta a la selección humana que ha transitado las especies silvestres a cultivares modernos mediante la selección por domesticación (Peng *et al.*, 2011; Chaudhary, 2013). El fenotipo agrupa caracteres estructurales, bioquímicos y de comportamiento que se pueden observar y medir en los organismos (Sultan, 2000). Generalmente los caracteres que conforman el fenotipo de una especie presentarán variación dentro y entre poblaciones de la misma especie y entre variedades. La presencia de variación es un requisito indispensable para que ocurra el proceso evolutivo selectivo y la expresión de la variación fenotípica siempre estará influenciada por la expresión genética y el componente ambiental (Johansen, 1903). Una condición para que los cambios fenotípicos bajo selección ocurran durante el proceso de evolución es que la variación observada en los caracteres fenotípicos posea una base genética, es decir, que sea heredable y que, además, el carácter bajo selección esté relacionado con la adecuación de la especie o éxito reproductivo (Paran y van der Knaap, 2007). De esta forma, las plantas que presentan aquellos rasgos que son favorables para los humanos han sido seleccionadas por miles de años, resultando en las plantas que conocemos hoy en día y que difícilmente podrían considerarse la misma especie que su pariente silvestre.

Domesticación

La evolución por domesticación es un proceso similar a la evolución por selección natural que ocurre en condiciones naturales; donde el individuo mejor adaptado tiene mayor posibilidad de sobrevivir y dejar descendencia a la próxima generación (Darwin, 1859). De forma similar, durante la domesticación vegetal, los humanos seleccionan a los individuos con el fenotipo deseable (en uno o más caracteres) para cumplir con sus necesidades y obtener el beneficio manteniendo esa selección por generaciones; sólo los genotipos seleccionados pueden reproducirse y el fenotipo deseado se observará en la próxima generación (Rosenthal y Dirzo, 1997; Chaudhary, 2013; Whitehead *et al.*, 2017).

La domesticación vegetal es un proceso sumamente complejo. Meyer y colaboradores (2012) describen la trayectoria evolutiva de las especies de plantas silvestres a especies cultivadas en cuatro etapas, precedidas por una etapa de pre-domesticación, que duró al menos 2,000 años. La primera fase de domesticación está centrada en el mejoramiento, donde la propagación comienza y las diferentes presiones selectivas conllevan a cambios fenotípicos. La segunda etapa es la adaptación de las especies domesticadas a diferentes ambientes y a sus prácticas agrícolas (expansión geográfica). La maximización del rendimiento o producción se considera la tercera etapa, mientras que la cuarta etapa se centra en la

mejora de la facilidad de cultivo y la calidad de los productos. Una de las partes más importantes del proceso de domesticación es la selección direccional (Rieseberg *et al.*, 2002), que se refiere a la elección intencional sobre atributos deseables o convenientes, ya sea por su importancia alimenticia, sabor, estética o porque incrementen o facilitan la cosecha. Sin embargo, a consecuencia de esta selección de fenotipos deseados, involuntariamente se puede cambiar la frecuencia de aparición de otros caracteres asociados a aquellos que sí fueron seleccionados (Zohary, 2004). Así, las diferencias fenotípicas entre especies silvestres y sus variedades domesticadas son producto de eventos demográficos, migración y de las presiones selectivas en los caracteres de interés en cada especie (Hancock, 2005; Doebley *et al.*, 2006; Purugganan y Fuller, 2009).

El síndrome de la domesticación se refiere al grupo de características que presentan un alto número de plantas y animales domesticados en relación a sus ancestros silvestres. En animales, por ejemplo, las características que destacan son cambios en el tamaño, apariencia y el comportamiento de los individuos (Gepts y Papa, 2002). En plantas, el síndrome de domesticación es una combinación de diferentes caracteres vegetativos y reproductivos. Entre los vegetativos se consideran el aumento de tamaño de las plantas, biomasa y área foliar, y un hábito de crecimiento más compacto (disminución de la ramificación y distancia entre nodos) y una reducción o pérdida de compuestos tóxicos (Evans, 1993). En los caracteres reproductivos se observa el aumento del tamaño del fruto, la disminución de la latencia y la capacidad de dispersión de sus semillas (Harlan *et al.*, 1973; Burger *et al.*, 2008; Chaudhary, 2013), la maduración de frutos en temporadas no favorables (o maduración temprana), cambios en la estrategia reproductiva (autopolinización o reproducción vegetativa), el aumento en tamaño de las semillas, así como una gama más amplia de coloración en los frutos (Gepts y Papa, 2002; Meyer *et al.*, 2012).

Los caracteres químicos y físicos que confieren defensas a las plantas contra sus enemigos (herbívoros y/o patógenos) se consideran deseables, sin embargo, se ha prestado poca atención a su mantenimiento o selección en algunos casos (Gaillard *et al.*, 2017; Hagenbucher *et al.*, 2016; Hernández-Cumplido *et al.*, 2018). Evidencia empírica sugiere que las defensas de las plantas disminuyen durante el proceso de evolución por domesticación porque no se seleccionan los caracteres defensivos explícitamente (Rosenthal y Dirzo, 1997; Chaudhary, 2013; Whitehead *et al.*, 2017; Gaillard *et al.*, 2018). Las plantas en estado silvestre interactúan con herbívoros constantemente, manteniendo bajo selección los caracteres de resistencia y tolerancia que confieren a la planta un mayor éxito reproductivo (Marquis, 1992; pero ver Garrido y Fornoni, 2006). Por el contrario, en el estado doméstico, las plantas son protegidas (por insecticidas) y se elimina la intensidad de la interacción planta-herbívoro (Doebley *et al.*, 2006; Macfadyen y Bohan, 2010). Al no existir una presión selectiva por los herbívoros, se relaja la presión selectiva sobre

los caracteres de defensa y el valor adaptativo de los rasgos defensivos se reduce (Paran y van der Knaap, 2007).

Estrategias defensivas

La resistencia y tolerancia son dos estrategias defensivas que utilizan las plantas para enfrentar a los herbívoros. Tienen base genética y su mecanismo está compuesto por caracteres de la planta y ambas estrategias incrementan la probabilidad de sobrevivencia y adecuación después de la herbivoría (Strauss & Agrawal, 1999; Stowe *et al.*, 2000; Fornoni *et al.*, 2003; Núñez-Farfán *et al.*, 2007; Kariñho-Betancourt & Núñez-Farfán, 2015).

Tolerancia

La tolerancia es la capacidad de las plantas para minimizar los efectos negativos del daño por herbívoros y mantener la adecuación de la planta una vez que este ha ocurrido (Strauss y Agrawal, 1999; Simms, 2000). La tolerancia, confiere a la planta la capacidad de compensar el daño para sobrevivir, crecer y reproducirse y no tiene un efecto negativo sobre los herbívoros (Stowe *et al.*, 2000; Tiffin, 2000; Fornoni *et al.*, 2003). La tolerancia es la propiedad de un genotipo para amortiguar un estrés producido por un factor ambiental y solo se expresa cuando ocurre el daño (Fornoni, *et al.*, 2003). La tolerancia se puede medir como la diferencia de biomasa entre a las plantas con y sin daño (Strauss y Agrawal, 1999), en términos de crecimiento relativo y adecuación, es decir, promedio de frutos y semillas (Leimu *et al.*, 2006). Actualmente, se han identificado mecanismos de la tolerancia en plantas, como el aumento de la Tasa Relativa de Crecimiento (*i. e.*, RGR por sus siglas en inglés: *relative growth rate*; Valverde *et al.*, 2003), el crecimiento compensatorio (Belksy, 1986) y la disminución de la relación brote-raíz (de Jong y Lin, 2016). La asignación de energía a la biomasa de estas estructuras puede ser alterada por el daño por herbívoros (van der Meijden *et al.*, 1988). La medición de la capacidad fotosintética también es un componente útil para determinar la tolerancia al daño (McNaughton, 1983). La fotosíntesis es la vía de asignación de energía principal en plantas (Bolton, 2009) y se espera que la tasa de fotosíntesis cambie después del daño para reducir los efectos negativos del daño. La cantidad de radiación solar que una hoja recibe está en función de la concentración de los pigmentos fotosintéticos, por lo que la medición de la concentración de clorofila es un buen indicador del potencial fotosintético e indirectamente de energía asignable a la producción primaria (Curran *et al.*, 1990; Richardson *et al.*, 2002). Diversas medidas se utilizan también para estimar indirectamente la capacidad fotosintética, tasa de respiración, acumulación de carbono, tasa de crecimiento potencial (De la Riva *et al.*, 2016) y la cantidad de nitrógeno por unidad de área (Niinemets, 1999), que son buenos indicadores de la salud de la planta y que son medidas que varían en respuesta al

daño por herbívoros. Estas medidas son el área foliar específica (SLA), masa foliar por área (LMA), contenido de masa foliar seca (LDMC) y la densidad de la hoja (LD), que se basan en la relación del área, grosor de las hojas y su peso fresco y seco.

Resistencia

La resistencia es la habilidad de prevenir y/o disminuir la remoción del tejido foliar por medio de defensas químicas o físicas, potencialmente afectando la adecuación del enemigo (Fornoni *et al.*, 2003; Núñez-Farfán *et al.*, 2007). La resistencia se puede medir como (1) *antixenosis*, que se refiere a cuánto daño se sufre o cuántos herbívoros atacan a una planta en un periodo de tiempo (Stenberg *et al.*, 2017). O (2) *antibiosis* que mide el efecto de la planta sobre la sobrevivencia, crecimiento y reproducción del herbívoro (Stenberg *et al.*, 2017).

La resistencia también puede medirse en términos de la planta, a través de caracteres que funcionan como barreras físicas o compuestos químicos; Por ejemplo las espinas, tricomas foliares o la dureza de la hoja son caracteres físicos que impiden o reducen el daño del herbívoro sobre la planta (Levin, 1973; Young, 1987; Kariyat *et al.*, 2017). La mayoría de las plantas produce tricomas y una de sus funciones es defender contra herbívoros al incrementar su densidad en las hojas, por lo que es una medida utilizada con frecuencia para determinar resistencia (Levin, 1973; Valverde *et al.*, 2001; Handley *et al.*, 2005; Dalin *et al.*, 2008).

Los compuestos defensivos que se han estudiado en las plantas son los fenoles, terpenos y alcaloides (Mithöfer y Boland, 2012). La presencia de estos compuestos puede ser disuasivo, evitando que los insectos elijan a las plantas como hospedero o reduciendo el consumo de tejido foliar por insectos (Chen *et al.*, 2015). Además, las plantas pueden presentar cambios en la concentración de compuestos químicos; hormonas como el ácido abscísico o jasmónico regulan la síntesis de los metabolitos secundarios en respuesta a la defoliación (Agrawal, 2007). Esta regulación explica los cambios en la concentración de compuestos defensivos una vez que las plantas sufren daño. Para examinar la resistencia sobre los insectos, se evalúa el desempeño y adecuación del herbívoro. Aun cuando este último parezca centrado en el herbívoro, es una manera de medir indirectamente la resistencia de la planta (Stenberg *et al.*, 2017).

Domesticación y estrategias defensivas

Aun cuando las hipótesis predicen una disminución en la resistencia y tolerancia conforme la domesticación es más notable (Rosenthal y Dirzo; Chen *et al.*, 2015), la evidencia muestra inconsistencias que desvían predicciones, y esta variación que resulta de la domesticación puede estar asociada con las

diferencias entre las especies de plantas, el tipo de herbívoro y si este es especialista o generalista y/o los caracteres que se miden para cada estrategia defensiva (Turcotte *et al.*, 2014).

A favor de esta teoría, un experimento comparó las respuestas de tolerancia al daño foliar en porcentajes de 0, 15, 30 y 70% en tomates domesticados y su pariente silvestre (*Lycopersicon esculentum* cv Early Girl y *L. esculentum* var. *cerasiforme* Mill, respectivamente). Se calculó la capacidad fotosintética, área foliar, relación brote-raíz y se colectaron los frutos de las plantas. Las plantas de los tratamientos de 15 y 30% no se vieron afectadas en términos de reproducción, sin embargo las plantas domésticas con remoción de 70% sí redujeron su adecuación (Welter y Steggal, 1993). Además, se observó una disminución en el índice de área foliar en las plantas domesticadas, un patrón de asignación a las estructuras vegetativas (crecimiento) y sugirieron que la tolerancia a herbívoros disminuyó con la domesticación. Esto apoya la idea de que la detección de los efectos en la tolerancia dependen del nivel de daño y de los rasgos implicados en la reducción del impacto del daño foliar.

El efecto de la domesticación sobre la resistencia contra herbívoros también ha sido evaluado en diferentes plantas. En maíz se ha encontrado que la resistencia contra herbívoros es menor en variedades domesticadas en comparación con su pariente silvestre el teocintle (Dávila-Flores *et al.*, 2013). Un estudio que midió la resistencia en plantas silvestres y domesticadas de maíz, contra su herbívoro especialista *Spodoptera frugiperda* (Smith y Abbot, 1797), encontró que la tasa de sobrevivencia, la biomasa y el desarrollo de las larvas que se alimentaron de plantas de maíz silvestres se redujo sustancialmente; pero no en las larvas alimentadas de las cultivadas (Szczepaniec *et al.*, 2013); apoyando la idea de que la domesticación reduce la capacidad de las plantas para defenderse de los herbívoros.

Controversialmente, en un meta análisis donde se analizaron 29 especies diferentes comparándolas con sus parientes silvestres, observaron un incremento en la TRC y en la biomasa, así como en la resistencia a *Spodoptera exigua*, pero no en *Myzus persicae*, la resistencia química no difirió significativamente entre los cultivos y sus parientes silvestres (Turcotte *et al.*, 2014). Este trabajo sugiere la noción de que no existe un patrón general que defina cómo la domesticación influencia negativamente a la defensa en todas las especies de plantas. El efecto de la domesticación sobre la defensa puede diferir entre variedades y poblaciones, si estas han estado sujetas a un diferente patrón selectivo durante su historia de domesticación. Por esto, es necesario aumentar los estudios en diferentes variedades y poblaciones midiendo múltiples caracteres para capturar la heterogeneidad y poder comenzar a descifrar la complejidad de la domesticación.

En el presente trabajo se realizó una caracterización del efecto de la remoción foliar en plantas domesticadas (*C. annuum* var. *annuum* serrano y poblano) y su pariente silvestre (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*), identificando las respuestas entre tolerancia y resistencia. Para responder las siguientes preguntas: i) ¿Difiere la tolerancia y resistencia en las plantas silvestres y cultivadas?, ii) ¿Difiere la tolerancia y resistencia de las plantas con diferente nivel de daño foliar? y, iii) ¿Cómo varía la resistencia de *S. frugiperda* a las plantas de *Capsicum annuum*?

1.1 Antecedentes

El género *Capsicum* está conformado por 27 especies dentro de la familia Solanaceae (Moscone *et al.*, 2007), 22 especies son silvestres y cinco de ellas son domesticadas *C. annuum*, *C. chinense*, *C. frutescens*, *C. baccatum* y *C. pubescens* (Pickersgill *et al.*, 1991; Carvalho *et al.*, 2014). Es uno de los géneros de plantas que se ha diversificado considerablemente durante su proceso de domesticación de la cual se han derivado más de 50 cultivares (CONABIO, 2016). La pungencia (picor) de los frutos es una de las características del género y se debe a los capsinoides, alcaloides que se sintetizan en las glándulas de la placenta y pared del pericarpio del fruto (Moscone *et al.*, 2007; Materska y Perucka, 2005) y que son de gran interés por sus funciones como antioxidantes, anticancerígenos y antiinflamatorios (Reyes-Escogido *et al.*, 2011). Las especies domesticadas representan la mayor importancia comercial, así como la mayor diversidad morfológica (Perry *et al.*, 2007; Aguilar-Meléndez *et al.*, 2009; Qin *et al.*, 2014) y *Capsicum annuum* es la variedad económicamente más importante (Moscone *et al.*, 2007). Se ha documentado que la variedad *Capsicum annuum* var. *glabriusculum* (conocido como chiltepín) es el ancestro silvestre de la variedad *Capsicum annuum* var. *annuum* (Qin *et al.*, 2014; Carvalho *et al.*, 2014) y se sabe que las diferencias en la morfología y estructura genética entre las dos variedades se debe a una intensa selección humana (González-Jara *et al.*, 2011; Nicolai *et al.*, 2013).

En cuanto a las evidencias de los efectos de la selección direccional en la especie, se conoce que la presión selectiva a caracteres de reproducción como número de frutos, peso del fruto y la floración temprana, han aumentado sustancialmente el rendimiento agrícola de cultivares de *Capsicum annuum* (como se cita en Rao *et al.*, 2003). Los caracteres que hacen que las plantas domesticadas difieran de las silvestres (i.e. síndrome de domesticación) en *C. annuum* son el cambio en el tamaño, forma y la coloración de los frutos. Los domesticados tienen frutos de mayor tamaño, alargados y colores que varían entre rojo, naranja, amarillo y café, mientras que los silvestres son frutos pequeños de color rojo. Igualmente, hay cambios drásticos en el nivel de pungencia, existen casos donde los frutos domesticados pican más que los

silvestres. También se ha desarrollado un cambio en la morfología de las flores que favorece la autopolinización y un aumento en la tasa de germinación (Paran y Van Der Knaap, 2007). Sin embargo, se conoce poco sobre los cambios en los mecanismos defensivos que han resultado de la domesticación de los chiles mexicanos.

En el género *Capsicum*, la resistencia contra herbívoros se ha investigado mayormente en plantas domesticadas que en silvestres. Los únicos estudios comparativos entre especies o variedades silvestres y cultivadas son escasos y forman parte de experimentos con un gran número de especies (Turcotte *et al.*, 2014), por lo que no son descriptivos. Los resultados demostraron que la resistencia de *C. annuum* var. *annuum* difiere significativamente de *C. annuum* var. *glabriusculum* en la sobrevivencia y peso de orugas de *Spodoptera exigua*, mientras que no hubo diferencia en el número de áfidos (Turcotte *et al.*, 2014). También, en un meta análisis donde se compararon 73 cultivares, confirmaron que la domesticación ha disminuido la resistencia a herbívoros y ha favorecido rasgos morfológicos de la planta en *Capsicum annuum* (Whitehead *et al.*, 2017). Se ha documentado que variedades silvestres y semi-cultivadas de *C. annuum* var. *glabriusculum* son resistentes a *Bemisia tabaci* y que causan mortalidad de las ninfas, mientras que el cultivar domesticado *C. annuum* var. *annuum* Jalapeño es susceptible y la mosca blanca puede desarrollarse exitosamente (Latournerie-Moreno *et al.*, 2015).

Para los cultivares de *Capsicum annuum*, se ha encontrado evidencia que indica que poseen atributos para defenderse de herbívoros y que pueden incrementar en respuesta al daño foliar (Estiarte *et al.*, 2014; Bosland, 1996; Abdala-Roberts *et al.*, 2014). Por ejemplo, Estiarte y colaboradores (1994) encontraron que la Tasa relativa de crecimiento de las larvas del herbívoro *Helicoverpa armigera* disminuyó, y la concentración de fenoles totales en las hojas aumentó, sugiriendo que los fenoles pueden ser un componente defensivo. En otro experimento de remoción foliar en *C. annuum* con el herbívoro *Spodoptera litura* (F), encontraron un aumento del contenido de fenoles en las larvas de segundo, tercero y cuarto estadio (Vijaya y Rani, 2017). Esta evidencia indica que las hojas de chiles silvestres y cultivados tienen estructuras físicas y químicas anti-herbívoros, pero no permite determinar si las diferentes variedades difieren en su nivel de resistencia.

La capacidad de tolerar el daño foliar es común en las plantas (Núñez-Farfán *et al.*, 2007) y es posible que *C. annuum* use la tolerancia y resistencia para defenderse de los herbívoros (Dipp-Alvarez, 2015). En un estudio en poblaciones naturales de chile silvestres se encontró evidencia que sugiere que hay poblaciones de *C. annuum* var. *glabriusculum* que toleran niveles altos de daño, mientras que en otras prevalece la resistencia (Dipp-Alvarez, 2015). Para cultivares de *C. annuum* var. *annuum* se han realizado experimentos que muestran que las respuestas al daño prevalecen en las plantas domesticadas. Por ejemplo, Valenzuela-

Apodaca (2016) demostró que el daño foliar mecánico incrementó significativamente la densidad de tricomas foliares abaxiales y el contenido de clorofila en hojas producidas 30 días después del tratamiento de daño en chile serrano. Si estos mecanismos se muestran también en otras especies domesticadas del género *Capsicum*, se esperaría que más variedades y cultivares pudieran emplear simultáneamente la resistencia y tolerancia en respuesta al daño. Si bien, para otras especies se ha encontrado tolerancia al daño por herbívoros (Liu *et al.*, 2000), el conocimiento de esta estrategia defensiva en el género es muy limitado. A pesar de la importancia de *Capsicum annuum*, el conocimiento sobre la tolerancia al daño por herbívoros es nulo. Y además, no se ha estudiado explícitamente el efecto de la domesticación sobre la tolerancia y resistencia. Por lo que trabajos como este son de gran relevancia.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo general

Caracterizar la variación en la respuesta de defensa en plantas silvestres y domesticadas de *Capsicum annuum*.

1.2.2 Objetivos específicos

- Analizar las respuestas de tolerancia y resistencia al daño foliar mecánico en las plantas de *C. annuum*.
- Estimar la resistencia relativa y desempeño de un herbívoro alimentado con las plantas de chile.

Capítulo 2. Metodología

2.1 Sistema de estudio

La variedad *Capsicum annuum* var. *annuum* (Solanaceae) ha pasado por un largo proceso de domesticación en México y está compuesta por una amplia variedad de formas cultivadas distribuidas alrededor del mundo. Son plantas arbustivas perenes de entre 1 y 2 metros, producen flores estrelladas de color blanco a crema, frutos de diversos colores (rojo, naranja, verde, amarillo y violeta) con tamaños altamente variados (Mongkolporn y Taylor, 2011) y presencia de diferentes niveles de pungencia o picor (Moscone *et al.*, 2007), y sus semillas son reniformes de color amarillento. *Capsicum annuum* var. *glabriusculum* comúnmente conocido como chiltepín, es considerado el pariente silvestre de los cultivares de *C. annuum* var. *annuum*. El chiltepín presenta un fenotipo variado dependiendo de la población, pero en general, es un arbusto perene que presenta tallos delgados, con hojas ovaladas de entre 1 y 4 cm de ancho y de 2 a 6 cm de largo, flores blancas y pequeños frutos redondos de entre 6 y 9 mm de diámetro, de color verde, que al madurar se tornan rojos (Hayano-Kanashiro *et al.*, 2016).

En sus ambientes naturales, las plantas de chile son consumidas por una gran variedad de herbívoros, entre ellos larvas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) (Luginbill, 1928). *S. frugiperda* es comúnmente conocida como oruga militar tardía o cogollero del maíz (Sparks, 1979). Su ciclo de vida consta de 6 estadios larvales, pupa y la adultez, cuando es mayormente de hábitos nocturnos (Sparks, 1979). La especie presenta una distribución cosmopolita y es considerada una plaga de maíz en el continente americano (Luginbill, 1928), aunque en los últimos años se ha expandido a través del mundo y su amplitud de hospedero incluye al menos 100 especies de plantas de 27 familias (Pogue, 2002).

2.2 Plantas, insectos y condiciones de crecimiento

Las semillas de *C. annuum* var. *annuum* serrano y poblano utilizadas eran de la marca comercial Vita Rancho los Molinos, S.A. de C.V., mientras que, las semillas de *C. annuum* var. *glabriusculum* se obtuvieron de una colecta de frutos realizada en Tapachula, Chiapas (octubre de 2018). Se utilizó suelo estéril turba Berger BM2 (Berger, Saint-Modeste, QB) en germinadores de 50 pozos, y al llegar a la quinta hoja verdadera, las plántulas fueron trasplantadas a macetas de 2.5 L, con el mismo sustrato. Todas las plantas fueron fertilizadas semanalmente a partir del trasplante con una solución NPK (19-19-19, 2 gr/L) para mantener los nutrientes controlados y se les regó con la misma cantidad y frecuencia, para no inducir

estrés hídrico. De la misma forma, se revisó el pH para que este no bajara de 5.5 y de esta manera, no limitar la adquisición de Hierro (Fe) en las plantas.

Las plantas de poblano y serrano del experimento de tolerancia y resistencia al daño mecánico permanecieron durante todo su tiempo de vida en el invernadero del Laboratorio de Genética Ecológica y Evolución en la Universidad Autónoma de Baja California (UABC) con luz natural, mientras que, debido a las condiciones climáticas las plantas de chiltepín se mantuvieron en la cámara de crecimiento controlado del mismo laboratorio, con un fotoperiodo de 14 horas luz y 10 oscuridad y una temperatura constante día/noche de $25^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$.

Las larvas de *Spodoptera frugiperda* utilizadas en el experimento de herbivoría (resistencia a herbívoros) fueron proporcionadas por el Laboratorio de Control Biológico de El Colegio de la frontera sur (ECOSUR) Unidad Tapachula, Chiapas. Las larvas se mantuvieron todo el tiempo en el insectario del Laboratorio de Genética Ecológica y Evolutiva (UABC) y fueron alimentadas con una dieta artificial hasta el momento del inicio del experimento, cuando se comenzó la alimentación con hojas de las diferentes plantas de chile. Las plantas utilizadas para este experimento se mantuvieron todo el tiempo en una cámara de crecimiento controlado, siguiendo las especificaciones mencionadas anteriormente y fueron seleccionadas para el experimento con base en su similitud en altura y número de hojas.

2.3 Diseño experimental

Se realizaron dos experimentos de tipo jardín común donde las plantas crecieron en condiciones ambientales homogéneas, de modo que las diferencias expresadas en los resultados del experimento se debieron a la variación genética.

En el primer experimento se realizó remoción foliar por daño mecánico a plantas de *Capsicum annuum* var. *glabriusculum* y *C. annuum* var. *annuum* serrano y poblano, para evaluar su respuesta defensiva, distinguiendo entre tolerancia y resistencia. Para este experimento se seleccionaron 20 plantas para cada uno de los tres tratamientos de daño mecánico: 0%, 25% y 50% de remoción foliar (en adelante, denominados también como control, daño moderado y daño severo, respectivamente). La remoción se realizó con base en una estimación del área foliar en función de la medida del largo de la hoja por medio del ajuste de modelo de regresión cuadrática (Ver 2.7.1). El tratamiento se realizó al remover el área foliar utilizando sacabocados cilíndricos de acero de diferentes medidas (0.10, 0.19, 0.36, 0.78, 1.09, 1.38, 1.66

y 1.93 cm²) según el área que correspondiera retirar. Para esto, se estableció una tabla de estimación que contenía las diferentes longitudes que podían presentar las hojas maduras de cada variedad y a cada longitud se le asignó una cantidad de orificios (con una medida de sacabocados) a realizar, según el tratamiento de daño. De este modo, al momento del tratamiento de daño, se midió individualmente cada hoja y se retiró el 25% ó 50% (según correspondiera) de cada una de las hojas. A las plantas control no se les realizó ningún daño.

El segundo experimento se realizó utilizando un herbívoro como parte del sistema de estudio, se evaluó la resistencia de las plantas al herbívoro *S. frugiperda*. Las larvas se alimentaron con hojas de las plantas y su desempeño y supervivencia fue prueba indirecta de la resistencia de la planta.

2.4 Tolerancia al daño mecánico foliar

2.4.1 Tasa Relativa de Crecimiento (*TRC*)

Debido a que se realizó un análisis estadístico en las mediciones basales (antes del daño) de las plantas de los diferentes tratamientos y se encontraron diferencias significativas en términos de altura y del diámetro del tallo, se usó la tasa relativa de crecimiento (*TRC* o *RGR* por sus siglas en inglés) para normalizar los datos. La *TRC* es el incremento en masa por unidad de tiempo (M. De Swart *et al.*, 2006), es decir, toma en cuenta la relación diferencial en la medida de la planta a través de un tiempo determinado. Para calcular la *TRC*, se utilizará la siguiente fórmula, modificada de Hoffmann y Poorter (2002):

$$TRC = \frac{\ln(A_2) - \ln(A_1)}{t_2 - t_1} \quad \text{Ec (1)}$$

Donde A_1 y A_2 , se refiere a las mediciones de altura antes y después del daño (transformados por el logaritmo natural), mientras que t_2 y t_1 se refiere a los tiempos 1 y 2 (días transcurridos entre las dos mediciones). Esta fórmula se utilizó también para determinar la *TRC* para el diámetro (o ancho) del tallo, que fue medido con un vernier electrónico.

2.4.2 Medidas foliares

Se contó el número de hojas antes y después del daño, tomando en cuenta únicamente las hojas del tallo principal. Al finalizar el experimento, se colectaron tres hojas (completamente extendidas) de cada planta

para medir del Área Foliar Específica (*SLA* por sus siglas en inglés) y la Masa Foliar por Área (*LMA* por sus siglas en inglés). *SLA* se calculó como la división entre el área foliar y su biomasa en seco. *LMA* se calculó como la división entre la biomasa en seco y el área foliar.

El área de cada hoja se midió utilizando el software WinFOLIA (Regent Instruments Inc., Quebec, Canadá). Las hojas fueron prensadas y colocadas en el horno de secado durante 96 horas a 30 °C, para posteriormente ser pesadas en la balanza analítica. Se realizó un promedio entre las mediciones de las tres hojas de cada variable y se asignó a cada planta.

2.4.3 Índice de Contenido de Clorofila

El Índice de Concentración de Clorofila (*ICC*) foliar se midió con el medidor no destructivo CCM-200+ Chlorophyll Content Meter (Opti Sciences, Hudson NH, USA). El medidor determina el *ICC* por medio de la medición de la absorbancia en un área de 0.71cm² a 660 y 940 nm (± 1.0). Se midió la clorofila en tres hojas seleccionadas al azar, que estuvieran completamente desarrolladas y de diferentes partes a lo largo del tallo: El *ICC* se tomó antes y después del tratamiento de remoción foliar. Se calculó un promedio de *ICC* por cada planta a partir de tres mediciones.

2.4.4 Variables de reproducción

Como medida de la reproducción, antes y después del daño se contabilizó el número de botones, flores y frutos en los días de las dos mediciones. Los frutos se colectaron y su peso se utilizó como variable de reproducción, se realizaron dos colectas, donde se obtuvieron los frutos que estuvieran completamente desarrollados (talla comercial promedio) o en su caso, que comenzaran a madurar (coloración rojiza) (Figura 8 y 9 anexos) y una última colecta, el día que terminó el experimento, sin importar si estaban o no completamente desarrollados. Los frutos fueron pesados después de la colecta (peso húmedo) y posteriormente, se introdujeron en un horno de convección a 75 °C durante 72 horas, para obtener el peso seco.

2.5 Resistencia al daño mecánico

2.5.1 Lignificación

Como una variable indirecta de la lignificación de las plantas, como respuesta de resistencia a la defoliación se midió la altura de la lignificación desde la base del tallo, antes y después del tratamiento de daño. Se obtuvo la Tasa relativa de crecimiento de la lignificación del tallo principal de las plantas, utilizando la Ecuación 1 (Ver 2.4.1).

2.5.2 Densidad de tricomas

Al final del experimento de resistencia al daño mecánico se colectaron 3 hojas maduras (completamente extendidas) seleccionadas al azar de cada planta y se calculó la densidad de tricomas como el número de tricomas por área (22.5 mm^2), como estimador de resistencia física al daño foliar. Los conteos se hicieron sobre una fotografía de la muestra obtenida a través de una cámara AxioCam ICc 5 (Zeiss, Alemania) montada en un microscopio estereoscópico Stemi 2000-C (Zeiss) en el software ZEN (Zeiss). El promedio de los tres conteos se asignó como la densidad de tricomas foliares por planta.

El conteo se realizó en el área central derecha, en la segunda venación y se cuantificaron ambas caras de la hoja (abaxial y adaxial) excluyendo aquellos tricomas que estuviesen en las venaciones, en caso de que se presentaran en la zona muestreada. Se eligió esta área ya que se ha documentado que provee un buen estimado del promedio de la densidad de tricomas total de la hoja (Valverde *et al.*, 2001; Abdala-Roberts *et al.*, 2014).

2.5.3 Fenoles totales

Como un estimador de resistencia química, se calculó el Contenido Total de Fenoles (TPC por sus siglas en inglés), con el método estandarizado de Folin-Ciocalteu. Este método cuantifica el TPC a través de la transferencia de electrones de un medio alcalino de compuestos fenólicos a un complejo de ácido fosfomolibdico/fosfotúngstico y resulta en un vire de las muestras en una gama de colores azules, lo que permite la medición de las muestras en el espectro visible como equivalentes de ácido gálico (GAE). La metodología utilizada es una modificación del método descrito por Ainsworth y Gillespie (2007).

Al finalizar el experimento, se colectaron dos hojas completamente extendidas de cada planta y se colocaron por 96 horas en un horno de convección a 30 °C. Cada hoja fue macerada con un pistilo dentro de un tubo Eppendorf (2 ml) para homogenizar la muestra, posteriormente se adicionó 1mL de H₂O y se centrifugaron los tubos durante 7 minutos a 13,000 rpm. A un tubo nuevo se le agregaron 20 µl del sobrenadante de la solución centrifugada y posteriormente, 100 µl de reactivo Folin-Ciocalteu. Se agitaron las muestras y se añadieron 300 µl de Na₂CO₃ a cada tubo, para después ser incubados durante una hora en el horno de convección a 30 °C, por último, se transfirió la muestra a la celda del espectrofotómetro y se midió la absorbancia a 765 nm. Se obtuvo una curva de estandarización de ácido gálico a partir de la muestra blanco, donde se graficaron los resultados y se calculó el TPC en equivalentes de ácido gálico utilizando la ecuación de la regresión. Se realizó un promedio entre las dos mediciones (dos hojas de cada planta) y se asignó como el contenido total de fenoles.

2.6 Resistencia relativa a herbívoros

La estimación de la resistencia promedio (R_p) es utilizada ampliamente como medida de resistencia total en las plantas (Leimu y Koricheva, 2006; Núñez-Farfán y Dirzo, 1994). Para estimar la resistencia, se eligieron 45 larvas de *Spodoptera frugiperda* en quinto y sexto estadio (una larva para cada planta) y se asignaron a 45 plantas (n): 15 de poblano, 15 de serrano y 15 chiltepín (independientes del experimento de daño mecánico) que tuvieran características de altura y número de hojas similares. Para el experimento se obtuvo una muestra de la hoja con un sacabocados, con un área circular de 1.93 cm² y se colocó como única fuente de alimento para la larva durante 24 horas en un vaso de plástico de 1 oz. Para asegurar que las larvas se alimentaran con las hojas, se privaron de alimento por seis horas previas al experimento.

Una vez que pasaron las 24h, se calculó el área consumida (A_D) y área total (A_T), utilizando un medidor de área foliar (WinFOLIA; Regent Instruments Inc., Quebec, Canadá). La resistencia relativa a los herbívoros de la planta se calculó como: $R_p = 1 - A_D/A_T$ según estudios previos (Núñez-Farfán y Dirzo, 1994).

Para determinar si la alimentación con tejido de diferentes variedades afecta la supervivencia y emergencia en el estadio adulto se continuó alimentando las larvas hasta que murieron o entraron en estado de pupa. La mortalidad y supervivencia de las larvas alimentadas con cada tipo de chile fue registrada como un cero o un uno, respectivamente.

2.7 Análisis estadístico

2.7.1 Modelo de regresión cuadrático

Para determinar la cantidad de área foliar que debía ser removida de cada una de las hojas de las plantas de los tratamientos de daño moderado y severo (25 y 50% de daño), se ajustó un modelo matemático que permitió estimar el área foliar de cada hoja a partir de la medición de su longitud. Para esto, se colectaron todas las hojas de dos plantas de cada variedad (chiltepín, serrano y poblano) y se utilizó el software WinFOLIA (Regent Instruments Inc., Quebec, Canadá) para medir el área y el largo de cada una de las hojas. Para ajustar el modelo de regresión cuadrático, el largo de la vena central de las hojas fue considerado como la variable independiente y el área de la hoja como la variable dependiente. Una vez que se obtuvo la ecuación, se sustituyó la variable independiente por diferentes medidas de largo de la hoja para crear una tabla con estimaciones del área foliar, posteriormente se calcularon los porcentajes de 25 y 50% de área y estos datos se utilizaron para realizar el daño foliar.

Se seleccionó el modelo cuadrático ya que este fue el que mejor ajustó a los datos de estimación para las plantas. Para las plantas de chile poblano, serrano y chiltepín los ajustes fueron $R^2 = 99.5\%$ ($y = 0.2969x^2 + 0.2381x - 0.5359$), $R^2 = 86.46\%$ ($y = 0.258x^2 + 0.5759x - 0.8683$) y $R^2 = 98.31\%$ respectivamente.

2.7.2 Análisis de varianza

Se realizaron ANOVAs univariados para cada uno de los atributos de resistencia y tolerancia medidos para evaluar si existían diferencias entre los tratamientos de daño (0%, 25% y 50% de daño) en cada tipo de planta (chiltepín, poblano y serrano), posteriormente se realizó una prueba HSD de Tukey para determinar las diferencias significativas entre los tratamientos (tomando como significativos los valores $P < 0.05$). El modelo incluyó los efectos fijos de línea genética, y como variables de respuesta se incluyeron la densidad de tricomas, contenido de fenoles totales, *TRC*, *ICC*, las medidas foliares y de reproducción (peso total de los frutos, número de botones y flores), para conocer si existía una respuesta al tratamiento de daño foliar en cada línea genética. Todos los análisis se realizarán utilizando el software estadístico JMP10 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

2.7.3 Chi-Cuadrada

Se utilizó una prueba Chi Cuadrada para determinar si existía una relación entre la supervivencia de las larvas de *S. frugiperda* en función de los tipos de alimentación (hojas de poblano, serrano o chiltepín) en el experimento de resistencia relativa a los herbívoros. Se realizó este tipo de análisis ya que los datos obtenidos de supervivencia y desarrollo a adulto fueron valores nominales (valores de 0 y 1). Se utilizó el software JMP10 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

Capítulo 3. Resultados

3.1 Tolerancia al daño mecánico foliar

3.1.1 Tasa Relativa de Crecimiento

La remoción foliar tuvo un efecto variable en la tasa relativa de crecimiento en la altura de las plantas de chile serrano ($P = 0.0339$, Tabla 1 y 2 anexos). Las plantas expuestas al tratamiento de daño severo tuvieron una TRC 27.56% menor que las plantas control, mientras que las plantas con daño moderado no difirieron significativamente del control (Figura 1A). No se encontró un efecto en respuesta al tratamiento de daño en las plantas de chile poblano ($P = 0.3256$), ni en las plantas silvestres de chiltepín ($P = 0.5769$).

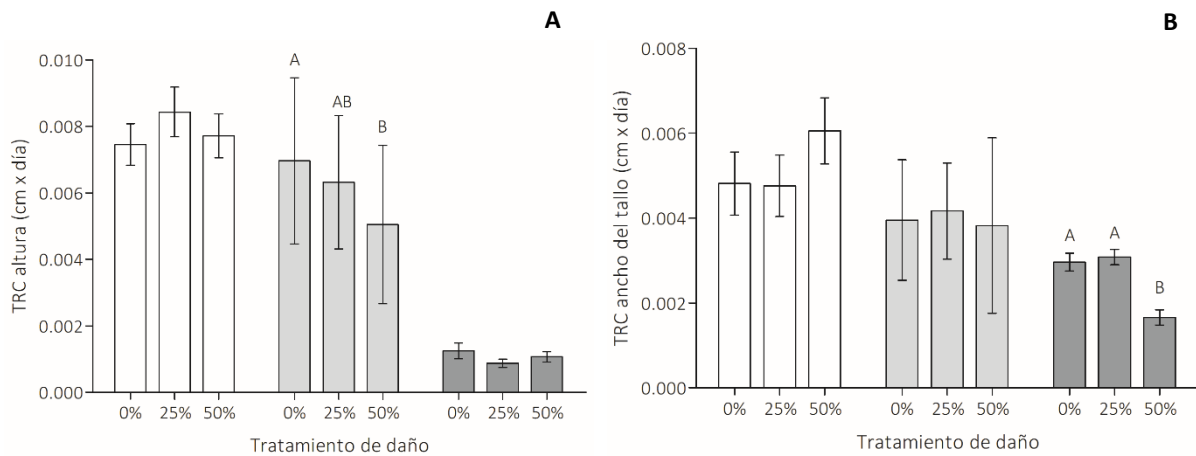


Figura 1. Tasa Relativa de Crecimiento en la altura y ancho del tallo principal. Se muestran los valores promedio TRC (\pm E.E) de la altura (A) y ancho del tallo principal (B) en cm por día en plantas de chile silvestre *C. annuum* var. *glabriusculum* chiltepín (□) y domesticado *C. annuum* var. *annuum* serrano (■) y poblano (■). Las letras indican los tratamientos de remoción foliar que difirieron entre sí según la prueba HSD Tukey ($P < 0.05$).

En las plantas de chile poblano, se observó una diferencia en la TRC del ancho del tallo ($P = <0.0001$, Tabla 1 y 2 anexos) entre los tratamientos de daño como respuesta al daño. Las plantas del tratamiento de daño severo disminuyeron su TRC en un 3.1%, en comparación con las plantas control (Figura 1B). El tratamiento de daño no indujo una respuesta en las plantas de chile serrano ($P = 0.7914$), ni en las de chiltepín ($P = 0.3868$).

3.1.2 Medidas foliares

En las plantas domesticadas de chile serrano y poblano se detectaron diferencias significativas en el número de las hojas del tallo principal en respuesta a los tratamientos de remoción foliar ($P = <0.0001$, Tabla 1 y 2 anexos). Las plantas de chile serrano expuestas a los tratamientos de daño moderado y severo, presentaron una disminución de número de hojas en 93% y 61%, respectivamente (Figura 2A) en comparación con las plantas control (ver discusión). En chile poblano, las plantas expuestas a daño severo presentaron un aumento del 22% de hojas en comparación con las plantas sin daño. En contraste, las plantas con daño moderado no difirieron. Finalmente, las plantas de chile silvestre (chiltepín) no presentaron diferencias entre ninguno de los tratamientos ($P = 0.1045$).

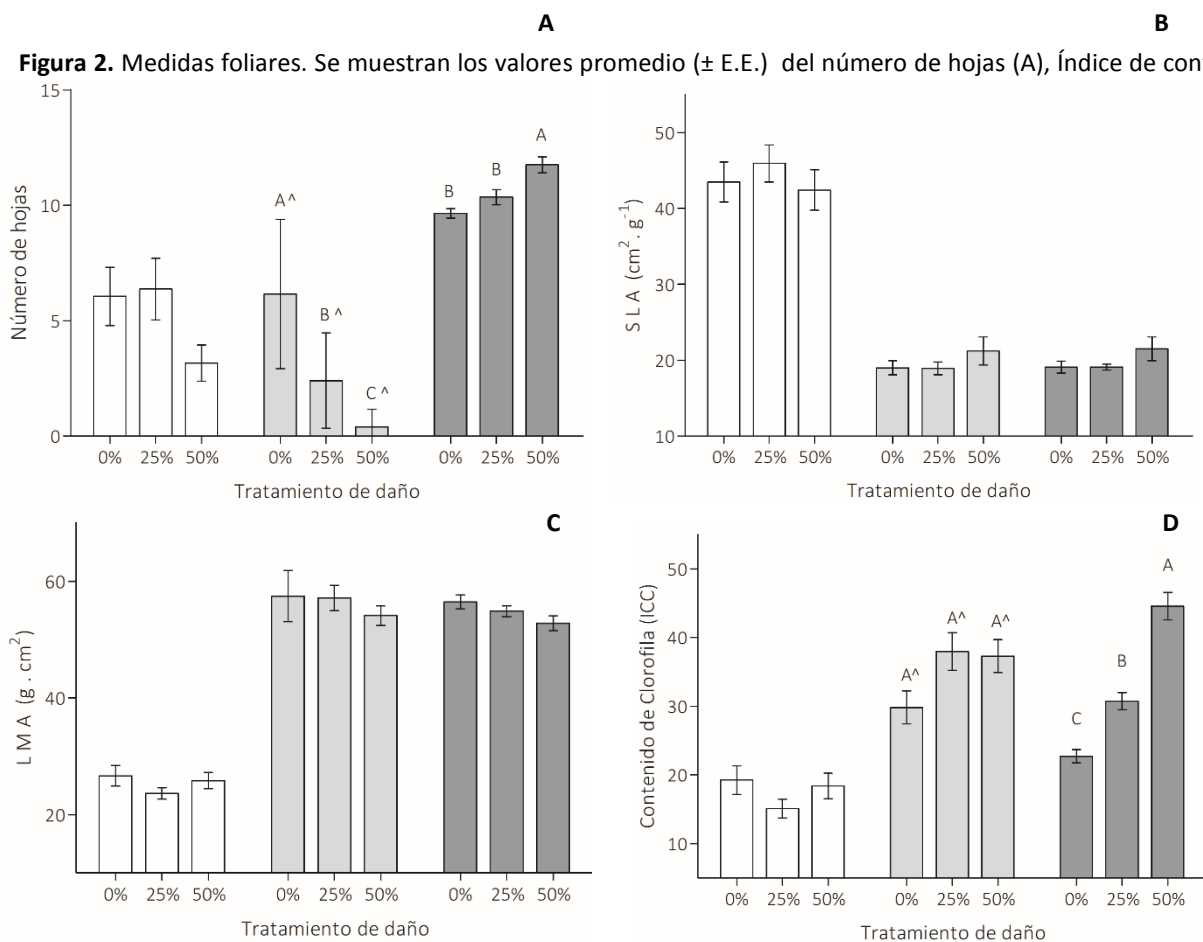


Figura 2. Medidas foliares. Se muestran los valores promedio (\pm E.E.) del número de hojas (A), Índice de contenido de clorofila ICC (B), área foliar específica en $\text{cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ (C) y la Masa foliar específica (LMA) en $\text{g} \cdot \text{cm}^2$ (D) en plantas de chile silvestre *C. annuum* var. *glabriusculum* chiltepín (□) y domesticado *C. annuum* var. *annuum* serrano (■) y poblano (▀). Las letras indican los tratamientos de remoción foliar que difirieron entre sí según la prueba HSD Tukey ($P < 0.05$) y (^) ver discusión.

En el área foliar específica (*SLA*) y Masa Foliar Específica (*LMA*) no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos de daño en plantas de chile silvestre chiltepín ($P = 0.5903$, $P = 0.2009$), ni en las

plantas domésticas de chile serrano ($P = 0.4844$, $P = 0.7014$) y poblano ($P = 0.0733$, $P = 0.1111$) (Figura 2 B y C).

3.1.3 Índice de Contenido de clorofila

El índice de contenido de clorofila mostró mucha variación dentro de cada variedad. Se encontraron diferencias significativas en el índice de contenido de clorofila en las plantas domesticadas de chile serrano y poblano ($P_{\text{serrano}} = 0.0466$ y $P_{\text{poblano}} = <0.0001$, Tabla 1 y 2 anexos). En comparación con las plantas control, la clorofila de las plantas expuestas a los tratamientos de daño incrementó 20%. Sin embargo, la prueba HSD Tukey no mostró diferencias significativas en la prueba posterior (Figura 2D, ver discusión). De igual manera, las plantas de chile poblano expuestas a los tratamientos de daño incrementaron su ICC en 26% en las plantas de daño moderado y 49 % en las plantas de daño severo (Figura 2D). El daño mecánico no tuvo un efecto en la concentración de clorofila en la variedad silvestre ($P = 0.2389$).

3.1.4 Variables de reproducción

La producción de botones florales en las plantas de chile poblano expuestas a los tratamientos incrementó significativamente en relación a las plantas no dañadas ($P = <0.0001$, Tabla 1 y 2 anexos). Las plantas con daño moderado y severo aumentaron un 36% el número de botones en comparación con las plantas control (Figura 3A). No se observó un efecto en la producción de botones en las plantas de chile serrano ($P = 0.1982$), ni en chile silvestre ($P = 0.0772$). El número de flores no difirió entre ninguno de los tratamientos de la variedad silvestre ($P = 0.3975$), ni en las variedades domesticadas ($P = 0.2186$ poblano y serrano $P = 0.2931$) (Figura 3B).

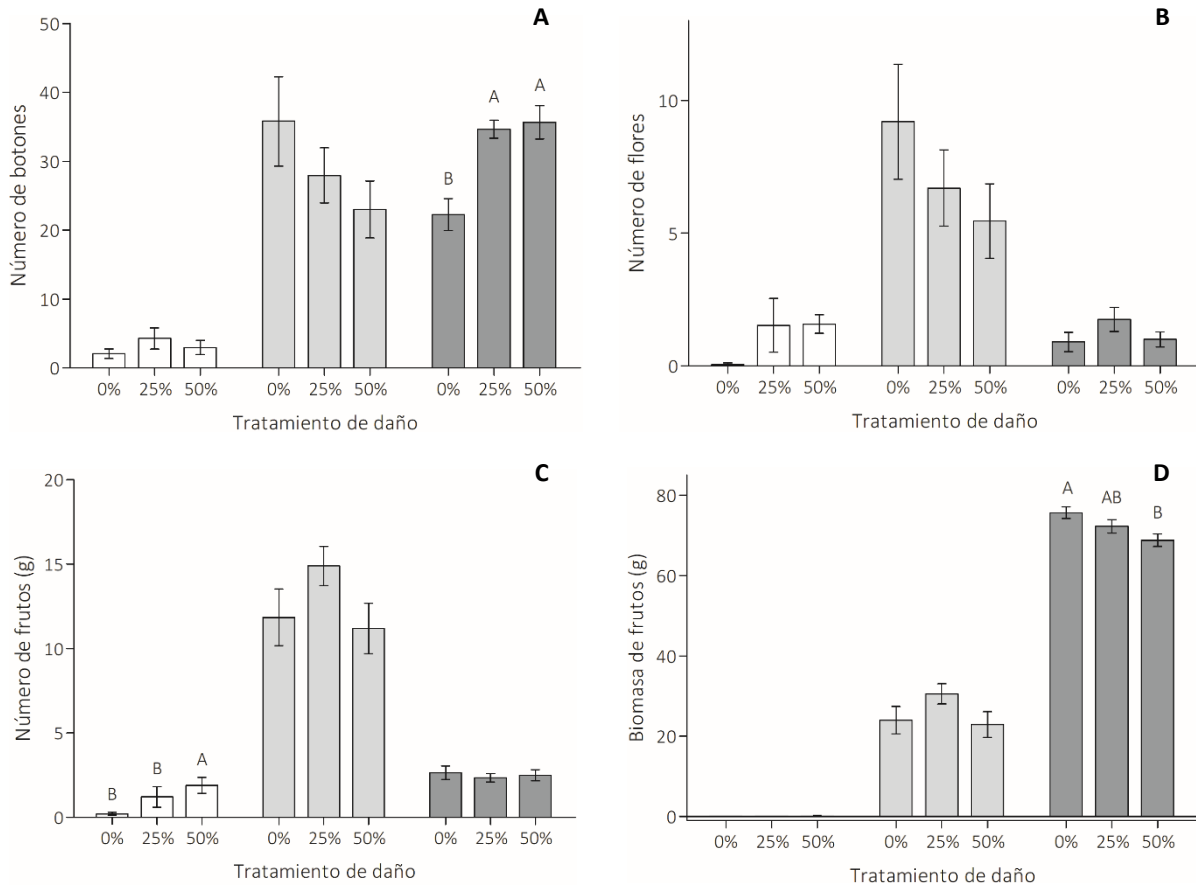


Figura 3. Variables de reproducción. Se muestra el promedio (\pm E.E.) del número de botones florales (A), flores (B), frutos (C) y peso fresco de la producción de frutos en gramos (D) en plantas de Chile silvestre *C. annuum* var. *glabriusculum* chiltepin (□) y domesticado *C. annuum* var. *annuum* serrano (■) y poblano (■). Las letras indican los tratamientos de remoción foliar que difirieron entre sí según la prueba HSD Tukey ($P < 0.05$).

Los frutos producidos, se contaron y se cuantificó su peso en biomasa fresca y seca. El tratamiento de daño tuvo un efecto en plantas de Chile poblano ($P = 0.0133$) y en las plantas de Chile silvestre ($P = 0.0349$, Tabla 1 y 2 anexos). Las plantas de Chile poblano expuestas al daño severo tuvieron una disminución de 9% y 4.5% en plantas con daño moderado en biomasa asignada a frutos (Figura 3D), en comparación con las plantas control. Sin embargo, el peso seco (Figura 3A) y el número de frutos no mostró diferencias significativas entre los tratamientos de daño ($P = 0.0572$ y $P = 0.8165$ respectivamente). Finalmente, las plantas de Chile silvestre con daño severo tuvieron un aumento del 88% en número de frutos, en comparación con las plantas control (Figura 3C), sin embargo no se encontró un efecto en la biomasa total asignada a frutos en fresco ($P = 0.1088$) ni en seco ($P = 0.2441$) (Figura 3D y 3A). Por su parte, las plantas de Chile serrano no presentaron un efecto al tratamiento de daño en peso fresco ($P = 0.1717$), peso seco ($P = 0.1058$), ni en el número de frutos ($P = 0.1998$).

3.2 Resistencia

3.2.1 Lignificación del tallo

El tratamiento de daño foliar tuvo un efecto en la tasa relativa de lignificación en el tallo de las plantas de chile silvestre *C. annuum* var. *glabriusculum* ($P = 0.03$, Figura 4). Las plantas expuestas al tratamiento de daño severo de daño tuvieron disminución en la TRC de 38% en comparación con las plantas sin daño, mientras que las plantas con daño moderado aumentaron 4% el crecimiento por día. En el caso de las variedades domesticadas no se encontraron diferencias significativas en la TRC ($P = 0.0608$ serrano y poblano $P = 0.5227$, Figura 4).

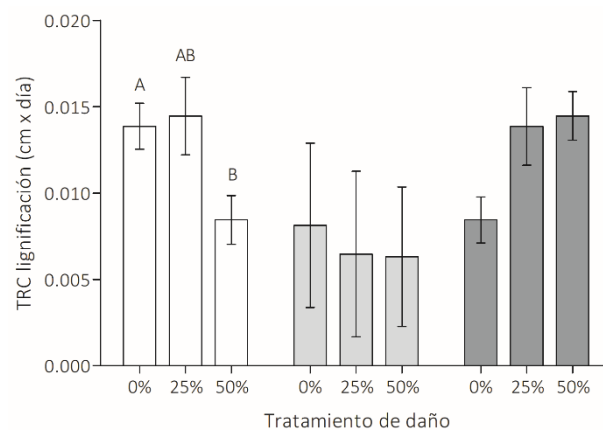


Figura 4. Tasa Relativa de Crecimiento en la lignificación del tallo principal (cm x día). Se muestran los valores promedio TRC (\pm E.E) en plantas de chile silvestre *C. annuum* var. *glabriusculum* chiltepín (□) y domesticado *C. annuum* var. *annuum* serrano (■) y poblano (■). Las letras indican los tratamientos de remoción foliar que difirieron entre sí según la prueba HSD Tukey ($P < 0.05$).

3.2.2 Densidad de tricomas

Se cuantificó la densidad de tricomas en 25.54 mm² de la cara abaxial y adaxial de las hojas como una medida de respuesta de resistencia a la remoción foliar. Las plantas de chile serrano y poblano presentaron una diferencia significativa entre los tratamientos para los tricomas de la cara abaxial ($P = 0.0006$ y $P = 0.0155$ respectivamente, Tabla 1 y 2 anexos). En las plantas de chile serrano, la densidad de tricomas de las plantas con daño severo aumentó 54% en comparación con las plantas sin daño (Figura 5A). Por su parte, las plantas de chile poblano con daño moderado y severo disminuyeron la densidad de tricomas (73% y 69% respectivamente), en comparación con las plantas control. No hubo un efecto del daño en la

densidad de tricomas abaxiales en las plantas de chiltepín ($P = 0.7863$) (Figura 5A) y ninguna variedad presentó diferencias en la densidad de tricomas de la cara adaxial.

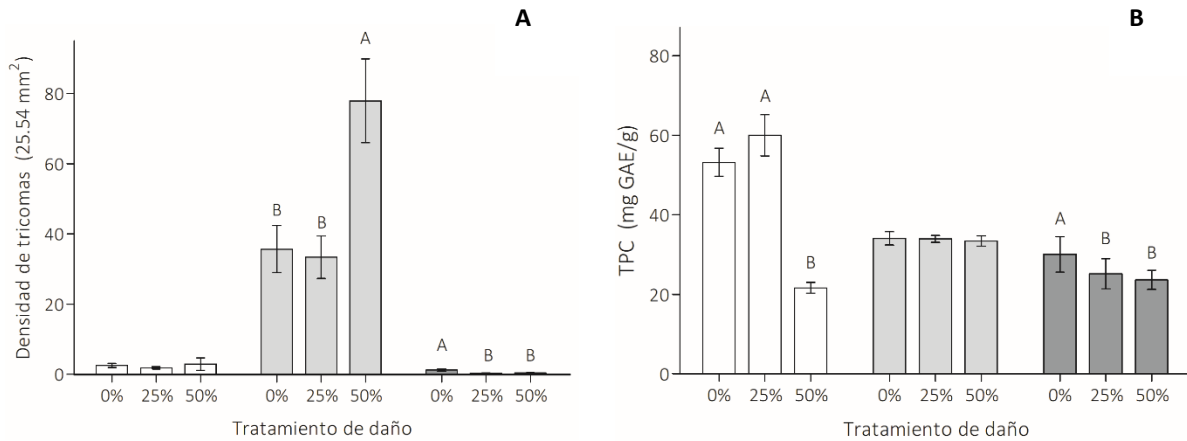


Figura 5. Densidad de tricomas la cara abaxial y contenido total de fenoles foliares. Se muestran los valores promedio (\pm E.E) del (a) número de tricomas \times 25.54 mm² y (b) contenido total de fenoles en mg GAE/g en plantas de chile silvestre *C. annuum* var. *glabriusculum* chiltepín (□) y domesticado *C. annuum* var. *annuum* serrano (■) y poblano (■). Las letras indican los tratamientos de remoción foliar que difirieron entre sí según la prueba HSD Tukey ($P < 0.05$).

3.2.3 Fenoles totales

Las plantas de chile silvestre y las plantas de chile poblano mostraron diferencias significativas en respuesta al daño ($P = <0.0001$, Tabla 1 anexos). Las plantas de chile silvestre expuestas a daño severo tuvieron una disminución en el TPC de 59%, en comparación con las plantas control (Figura 5b). Este comportamiento también se observó en las plantas de chile poblano. Las plantas con daño moderado disminuyeron un 11% el TPC, mientras que las plantas con daño severo presentaron 16% menor concentración de fenoles (Figura 5B). Las plantas de chile serrano no mostraron un efecto al tratamiento de daño ($P = 0.9294$).

3.3 Resistencia a los herbívoros

Se observó un efecto de la alimentación sobre las larvas de *S. frugiperda* cuando se alimentaron con hojas de plantas de chiltepín, serrano y poblano (Tabla 3 anexos). La supervivencia de las larvas disminuyó por la alimentación con hojas de plantas silvestres en comparación con las alimentadas con plantas cultivadas ($P = <0.0001$, Tabla 1). De las 15 larvas de cada tratamiento 0% sobrevivió a la alimentación con chiltepín,

mientras que el 73.33% (11) de las larvas con la dieta de serrano y poblano sobrevivieron y puparon (Figura 6).

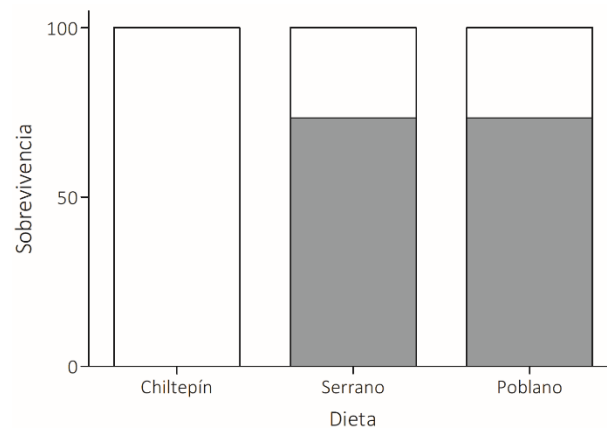


Figura 6. Sobrevivencia de *Spodoptera frugiperda* a la ingesta de tejido foliar. Se muestran los porcentajes de sobrevivencia en color gris y la mortandad en color blanco de *S. frugiperda* a la ingesta de plantas de chile silvestre (chiltepín), y domesticado (serrano y poblano). ($P = <0.0001^*$).

El consumo de tejido foliar promedio fue similar en las tres variedades de chile, la resistencia promedio (R_p) de la planta al herbívoro medida en el primer día de alimentación no difirió significativamente entre plantas silvestres y domesticadas ($P = 0.1774$). Tampoco mostró diferencias significativas el análisis de emergencia de las larvas sobrevivientes ($P = 0.4691$) alimentadas con hojas de serrano y poblano que habían entrado a pupa (Tabla 3 anexos).

Capítulo 4. Discusión

La hipótesis de la reducción de defensa a través de la domesticación supone que la selección direccionada al incremento de rendimiento y calidad del producto a cosechar favorecerá la reproducción y en contraste, la resistencia se verá disminuida por la ausencia de selección sobre los rasgos que reducen el daño debido a disyuntivas energéticas (Chen *et al.*, 2015). Como resultado, se espera que los herbívoros tendrán un mejor desempeño (i.e. tasa de consumo y crecimiento, sobrevivencia, etc.) en las plantas domesticadas, en comparación con las plantas silvestres (Rosenthal y Dirzo, 1997; Chen *et al.*, 2015; Gaillard *et al.*, 2018). Por esto, se predice una disminución en la capacidad defensiva por disyuntiva de costos energéticos asociados a la inversión en crecimiento y reproducción (Coley *et al.*, 1985; Herms y Mattson, 1992). Los resultados obtenidos en este trabajo aportan evidencia que apoya esta teoría en términos de tolerancia y resistencia.

Tolerancia

Este trabajo sugiere que a través de la domesticación de los chiles mexicanos la tolerancia a la herbivoría (daño foliar) ha disminuido. Las plantas silvestres de los tratamientos de daño presentaron una alta tolerancia al daño, al no presentar un efecto en los caracteres medidos por el daño foliar y no disminuir su adecuación, mientras que las variedades domesticadas con daño moderado pudieron tolerar la remoción foliar sin comprometer la reproducción, mientras que las plantas con daño severo no.

Disyuntivas: crecimiento, reproducción y defensa

Históricamente, la investigación de la defensa en plantas se ha planteado que una vez que se da un ataque por herbívoro se compromete la asignación de energía creando una disyuntiva de asignación a crecimiento, defensa o reproducción (Herms y Mattson, 1992; Chase, 1999). En las plantas de Chile silvestre se observó claramente este comportamiento de asignación a reproducción, las plantas expuestas a los tratamientos de daño fueron las primeras que comenzaron a producir botones, flores y frutos (obs. pers.). Además, las plantas con daño severo presentaron un mayor número de frutos, sin embargo, no hubo diferencias significativas entre los tres tratamientos en términos de la biomasa frutal producida. Esta observación nos da una pista del comportamiento de la especie en términos de asignación cuando se enfrenta a herbivoría. En este sentido, los resultados de este trabajo sugieren que las plantas de Chile serrano con daño severo pudieron utilizar como estrategia el asignar una mayor cantidad de energía a la reproducción, evitando así la disminución en el número y biomasa de los frutos para mantener su

adecuación, comprometiendo una parte de la energía de crecimiento de la planta, que se observó a través de la tasa relativa de crecimiento (Figura 1a).

La remoción foliar en las plantas de chile poblano incrementó la producción de botones florales en comparación con las plantas sin daño. Sin embargo, este incremento no se reflejó en el número de flores y frutos. Este resultado es consistente con la literatura, ya que es común que se observe un mayor número de abortos en botones y flores cuando las plantas se exponen a la pérdida de tejido en comparación con las plantas control (Nightingale y Farnham, 1936; Stepherson, 1981; Harper y Wallace, 1987).

Por otra parte, en asignación de recursos a los frutos, que fue medida como la masa total, los frutos de las plantas sin daño tuvieron una mayor masa y las plantas expuestas al tratamiento de daño severo tuvieron una disminución en la biomasa a frutos, lo que indica una modificación en la asignación de recursos a la reproducción una vez que ocurre el daño. Sin embargo no se observó un efecto por el tratamiento en el número de frutos y la biomasa seca (Figura 3). Esto indica que los frutos que se produjeron en las plantas expuestas a daño severo, en general fueron más pequeños comparados con los de las plantas sin daño, ninguno de los frutos producidos por estas plantas alcanzaron la talla comercial (Figura 7 anexos).

Rendimiento

El rendimiento, traducción de *yield* en inglés, se mide en kilogramos por hectárea, así que podemos suponer que el rendimiento de las plantas de poblano con 50% de daño disminuyó como respuesta al daño. Este comportamiento de tolerancia en niveles de daño bajos, pero pérdida de rendimiento en niveles de daño altos se ha observado también en *Zea mays* (Bailey y Pedigo, 1986) y en otros cultivos (Karel y Rweyemamu, 1984; Sandras y Wilson, 1998; Hochwender *et al.*, 2003). Esta disminución en el tamaño de los frutos se podría explicar por una restricción de energía debida a la asignación de los recursos disponibles divididos entre defensa y reproducción (Obeso, 2002). La energía que se requiere para la reproducción es a veces, mayor que la que se obtiene de las disyuntivas, por lo que existen otras estrategias para compensar esos gastos energéticos en las plantas y en algunos casos puede provenir de un incremento de fotosíntesis en hojas cercanas (Obeso, 2012).

Medidas foliares

La concentración de clorofila refleja el potencial fotosintético de las plantas (Cisneros-Silva *et al.*, 2017), y por ello, es una característica altamente relacionada con la capacidad de las plantas para tolerar el daño foliar (Tiffin, 2000). Aunque no se ha documentado una predicción explícita de la dirección de la respuesta en la clorofila una vez que ocurre un daño, los estudios han demostrado que puede mantener su nivel o

reducirse conforme incrementa el daño foliar (Deol *et al.*, 1997; Díaz-Montaña *et al.*, 2007). En este estudio, se encontró un aumento en el Índice de Concentración de Clorofila (ICC) de las plantas de las variedades domesticadas expuestas a los tratamientos de daño. El aumento fue muy notable en las plantas de chile poblano, mientras que no hubo respuesta en las plantas silvestres.

El aumento en la tasa fotosintética como mecanismo compensatorio después del daño foliar, está ampliamente documentado. En *Cucumis sativus* se encontró que las plantas con daño presentaron una mayor tasa, eficiencia y capacidad fotosintética, además de disipar menos energía como calor (Thompson *et al.*, 2003) y esta respuesta compensatoria se ha reportado como una respuesta general en varias especies (Anten y Ackery, 2001; Retuerto *et al.*, 2004; Nykänen y Koricheva, 2004). La variación en el contenido de clorofila mostrada por las diferentes especies indica que no todas las plantas responden igual. En este experimento, el aumento en el ICC evidencia que como respuesta a la pérdida de área fotosintética, la planta invierte en el aumento de clorofila para así obtener una mayor cantidad de energía al absorber luz en el área que tiene disponible para fotosintetizar y compensar la pérdida de área foliar por el daño. Este mismo principio explica el aumento en el número de hojas en las plantas de chile poblano expuestas al tratamiento de daño severo.

En las plantas de chile serrano se encontró un efecto significativo en el número de hojas entre todos los tratamientos, sin embargo, esta diferencia está relacionada con la abscisión de las hojas una vez que ocurrió el daño. Durante el experimento se observó que después de la primera remoción foliar, las plantas comenzaron a tirar las hojas que habían sido dañadas, principalmente las del daño severo (dejando sus tallos casi sin hojas) y en menor medida, también hubo pérdida en las plantas de daño moderado. Una explicación es que el daño mecánico activó la abscisión de las hojas, provocando su caída (Risley *et al.*, 1986). Estudios en otras especies sugieren que esta es una respuesta al daño (Faeth *et al.*, 1981), ya que el mantener las hojas dañadas puede ser más costoso y tener un beneficio menor para la planta, que promover la abscisión y sustituir la producción de carbohidratos para generar crecimiento secundario (Varley, 1967; Risley *et al.*, 1986).

Estos resultados indican que las plantas expuestas al tratamiento de daño severo son las que se ven mayormente afectadas por la remoción foliar y las que principalmente tienen una respuesta de asignación de energía para contrarrestar los efectos que una menor área para fotosintetizar podría implicar para la planta. Cabe destacar, que la inversión en el aumento de área foliar (SLA) o número de hojas también podría resultar en una mayor vulnerabilidad para los siguientes ataques en las plantas (Prins *et al.*, 1989). Esta podría ser la razón por la que las plantas invierten al mismo tiempo recursos en producir caracteres

que evitan que los herbívoros las consuman (Núñez-Farfán *et al.*, 2007; Carmona y Fornoni, 2013) y aumentan el número de hojas, mayor clorofila y que así, la funcionalidad prevalezca.

Resistencia

Se observó un efecto heterogéneo en los caracteres de resistencia entre las variedades de Chile analizadas como efecto de los tratamientos. De igual manera, algunos meta-análisis han encontrado respuestas heterogéneas en cuanto a la resistencia a herbívoros de plantas silvestres y domesticadas (Turcotte *et al.*, 2014; Whitehead *et al.*, 2018), argumentando que no siempre se cumple con la hipótesis de la reducción de las defensas y que principalmente esto dependerá de si se mide el tejido u órgano que se cosecha y si los herbívoros son generalistas o especialistas en la especie.

Concentración de fenoles

Respecto a la concentración total de fenoles (TPC) en las plantas silvestres, según la hipótesis de este trabajo y de acuerdo con la hipótesis de la domesticación, deberían de presentar una mayor cantidad de fenoles que las plantas domesticadas. En el estado basal, las plantas de chiltepin sí mostraron concentraciones mayores de fenoles (Figura 6), mostrando en promedio 40% mayor concentración. Sin embargo, como resultado del tratamiento en las plantas de Chile silvestre con daño severo, disminuyeron su TPC en 60% y un 20% en las plantas de Chile poblano. Hasta el momento, no sabemos de algún trabajo donde el TPC haya disminuido después del daño, sin embargo los compuestos fenólicos son compuestos carbónicos, por lo que tiene sentido que cuando existe una disminución del carbono disponible por el daño, las plantas inviertan menos en la defensa constitutiva.

Tricomas

Numerosos experimentos han demostrado que la densidad de tricomas juega un rol fundamental en la defensa contra herbívoros, presentando un aumento en su densidad después del ataque por herbívoros o daño mecánico (Valverde *et al.*, 2001; Abdala-Roberts y Parra-Tabla, 2005; Björkman *et al.*, 2008) y que las plantas con mayor número de tricomas son más resistentes a la herbivoría en términos de preferencia y/o oviposición (Binder y Benz, 1991; Løe *et al.*, 2007). Además, los tricomas generan una barrera que impide el consumo de las hojas por los herbívoros (Baur *et al.*, 1991; Fordyce y Agrawal, 2001; pero ver Navon *et al.*, 1991).

En este experimento, la densidad de tricomas constitutiva e inducida entre las variedades silvestres y las cultivadas fueron diferentes. Las plantas de Chile serrano mostraron un mayor número de tricomas que

las silvestres y las plantas de poblano (Figura 9 anexos). Estos resultados son contrastantes con la hipótesis de que la domesticación afecta las estructuras implicadas en la defensa contra herbívoros. Dos resultados explican estas diferencias observadas; el primero es la baja densidad de tricomas en las plantas de chile silvestre. Las plantas utilizadas provienen de poblaciones donde la densidad de tricomas es baja. Estimaciones recientes en poblaciones mexicanas de chile silvestre mostraron que la densidad de tricomas es menor en las plantas de poblaciones del sureste que las del noroeste (Bello-Bedoy *et al.*, en preparación). En particular, las poblaciones de Tapachula tuvieron la menor densidad de tricomas, explicando por qué los valores observados en este experimento son bajos. El segundo resultado que explica la inconsistencia de la hipótesis de la reducción de la defensa en plantas es el alto número de tricomas observados en las plantas control de chile serrano. Además, las plantas con daño severo exhibieron un aumento del 74% en densidad de tricomas. Estos resultados son consistentes con un estudio anterior que mostró que el daño mecánico indujo una producción mayor de tricomas (Valenzuela-Apodaca, 2016). Así, a pesar de que la diferencias entre plantas silvestres y cultivadas puede ser explicada por la ausencia de pubescencia en las hojas de chile silvestre, este estudio demuestra que las plantas de chile serrano poseen un alto nivel de resistencia, incluso superior que el de las plantas de chile poblano utilizadas en este estudio.

Resistencia a herbivoría

Otro objetivo de este estudio era estimar el efecto de las plantas sobre un herbívoro en su sobrevivencia y desarrollo para obtener una estimación de la resistencia (R_p). La alimentación con hojas de chile silvestre causó la mortalidad total de las larvas *Spodoptera frugiperda*. En contraste, el 73.33% de las larvas alimentadas con plantas de chile serrano y poblano completaron su desarrollo hasta pupa y emergieron como adultos. Este resultado indica que aun cuando la tasa de consumo (R_p) no mostró diferencias entre las variedades, las larvas se ven altamente afectadas por la alimentación continua con las plantas silvestres; sugiriendo que la resistencia de las plantas contra herbívoros disminuye con la domesticación, lo que permite que el insecto generalista tenga un buen desempeño en plantas de chile poblano y serrano.

El efecto de la domesticación en la sobrevivencia y desempeño de herbívoros también ha sido medido en otras especies, encontrando un patrón de desempeño y sobrevivencia similar al que se observó en este trabajo. Estudios que comparan especies de brassicáceas y moras silvestres han encontrado en general, que las larvas alimentadas con tejido de plantas silvestres tienen una supervivencia menor que las plantas alimentadas con tejido de cultivares domesticados y que en los cultivares tienen generalmente un mejor desempeño (Bukovinszky *et al.*, 2008; Hernández-Cumplido *et al.*, 2018). De esta forma, nuestros

resultados apoyan que la domesticación sí reduce la capacidad de las plantas para defenderse de los herbívoros.

El patrón encontrado en este estudio sugiere que las diferencias en el número de tricomas no explican la mortalidad de las larvas de *S. frugiperda*, en contraste, el contenido total de fenoles podría explicarlo. Las plantas de chile silvestre presentaron en promedio 40% mayor contenido fenólico en comparación con los cultivares de serrano y poblano (Figura 6b). Estos resultados sugieren que la defensa química es más relevante que la defensa física que proveen los tricomas. En general, estos resultados apoyan la idea de que la domesticación afecta la resistencia de las plantas, reduciendo la capacidad de controlar las poblaciones de herbívoros de las plantas cultivadas (Rosenthal y Dirzo, 1997; Chen *et al.*, 2015; Gaillard *et al.*, 2018).

Capítulo 5. Conclusiones

Este es el primer trabajo donde se examina detalladamente el efecto de la domesticación en estrategias defensivas contra insectos, resistencia y tolerancia en variedades silvestres y cultivadas de *Capsicum annum*. Los resultados obtenidos en el trabajo son complejos, existen respuestas heterogéneas entre las variedades cultivadas en los diferentes caracteres de resistencia y tolerancia. El patrón general que se observa sugiere que la domesticación ha relajado los mecanismos de defensa en las plantas de Chile, ya que se encontró tolerancia completa al daño en las plantas silvestres, mientras que en las cultivadas algunos caracteres relacionados con la tolerancia se vieron afectados. Aunado a una resistencia constitutiva elevada, que disminuyó en las plantas cultivadas, como sugieren las diferencias en la sobrevivencia de las larvas de *Spodoptera frugiperda*. Los resultados obtenidos son de gran relevancia para la especie y se recomienda ampliamente extender la investigación en las estrategias de defensa de la especie.

Los experimentos de daño mecánico simulando herbivoría son herramientas que permiten estimar los límites en los que las plantas responden al poder controlar el porcentaje de daño (Hjältén, 2008; Lehtilä y Boalt, 2008); Principalmente en caracteres de tolerancia como los que se midieron en este trabajo. En el experimento se pudo observar cómo los tratamientos de daño tuvieron un efecto heterogéneo entre las plantas de Chile domesticadas, mostrando que las plantas de Chile poblano no pueden tolerar daño severo, mientras que las plantas silvestres presentan una tolerancia total que les permite sobrevivir y reproducirse manteniendo su adecuación, aún después de estar expuestas constantemente a la remoción de hasta la mitad de su área foliar.

5.1 Perspectivas

Indudablemente existe una falta de información sobre los mecanismos y los límites de la tolerancia en la especie, por lo que se sugiere que los experimentos futuros estén enfocados principalmente en entender la heterogeneidad de la tolerancia.

Se observaron efectos en la reproducción como un aumento en el número de frutos de las plantas de chiltepín con daño severo y disminución en la biomasa en plantas con daño severo de poblano. Por lo tanto. Sería recomendable realizar un experimento donde como medida de fitness se haga un conteo de semillas o que el método experimental permita estimar la viabilidad mediante la germinación de las semillas para poder obtener medidas de fitness más precisas. Esto para conocer si el efecto de la

reproducción temprana afecta la capacidad de producción de semillas en chiltepín, como se propone en la literatura (Mahoro, 2002; Elzinga *et al.*, 2007) o si la disminución en el tamaño y biomasa de los frutos de poblano tuvo un efecto en la producción de semillas.

También, en relación a la resistencia, los resultados sugieren que es necesaria una caracterización de la composición química (compuestos fenólicos y otros) y nutricional de hojas de cada variedad, para entender de una mejor manera por qué las hojas de chile silvestre tienen un efecto tan marcado en la sobrevivencia de las larvas.

Literatura citada

- Abdala-Roberts, L., & Parra-Tabla, V. 2005. Artificial defoliation induces trichome production in the tropical shrub *Cnidoscolus aconitifolius* (Euphorbiaceae) 1. *Biotropica: The Journal of Biology and Conservation*, 37(2), 251-257.
- Abdala-Roberts, L., Berny-Mier Y. T., Mooney, K. A., Moguel-Ordonez, Y. B., & Tut-Pech, F. 2014. Plant traits mediate effects of predators across pepper (*Capsicum annuum*) varieties. *Ecological entomology*, 39(3), 361-370.
- Agrawal, A. A. 2007. Macroevolution of plant defense strategies. *Trends in ecology & evolution*, 22(2), 103-109.
- Agrawal, A. A., Strauss, S. Y., & Stout, M. J. 1999. Costs of induced responses and tolerance to herbivory in male and female fitness components of wild radish. *Evolution*, 53(4), 1093-1104.
- Aguilar-Meléndez, A., Morrell, P. L., Roose, M. L., & Kim, S. C. 2009. Genetic diversity and structure in semiwild and domesticated chiles (*Capsicum annuum*; Solanaceae) from Mexico. *American Journal of Botany*, 96(6), 1190-1202.
- Anten, N. P. R. & Ackerly, D. D. 2001. Canopy-level photosynthetic compensation after defoliation in a tropical understorey palm. *Functional Ecology*, 15(2), 252-262.
- Baur, R., Binder, S., & Benz, G. 1991. Nonglandular leaf trichomes as short-term inducible defense of the grey alder, *Alnus incana* (L.), against the chrysomelid beetle, *Agelastica alni* L. *Oecologia*, 87(2), 219-226.
- Björkman, C., Dalin, P., & Ahrné, K. 2008. Leaf trichome responses to herbivory in willows: induction, relaxation and costs. *New Phytologist*, 179(1), 176-184.
- Bolton, M. D. 2009. Primary metabolism and plant defense—fuel for the fire. *Molecular plant-microbe Interactions*, 22(5), 487-497.
- Bosland, P. W., & Ellington, J. J. 1996. Comparison of *Capsicum annuum* and *C. pubescens* for antixenosis as a means of aphid resistance. *HortScience*, 31(6), 1017-1018.
- Burger, J. C., Chapman, M. A., & Burke, J. M. 2008. Molecular insights into the evolution of crop plants. *American Journal of Botany*, 95(2), 113-122.
- Carmona, D., & Fornoni, J. 2013. Herbivores can select for mixed defensive strategies in plants. *New Phytologist*, 197(2), 576-585.
- Carvalho, S. I. C., Ragassi, C. F., Bianchetti, L. B., Reifschneider, F. J. B., Buso, G. S. C., & Faleiro, F. G. 2014. Morphological and genetic relationships between wild and domesticated forms of peppers (*Capsicum frutescens* L. and *C. chinense* Jacquin). *Genet. Mol. Res*, 12, 7447-7464.

- Chase, J. M. 1999. To grow or to reproduce? The role of life-history plasticity in food web dynamics. *The American Naturalist*, 154(5), 571-586.
- Chaudhary, B. 2013. Plant domestication and resistance to herbivory. *International journal of plant genomics*, 2013.
- Chen, Y. H., Gols, R., & Benrey, B. 2015. Crop domestication and its impact on naturally selected trophic interactions. *Annual Review of Entomology*, 60, 35-58.
- Cisneros-Silva, A., Castillo, G., Chávez-Pesqueira, M., Bello-Bedoy, R., Camargo, I. D., & Núñez-Farfán, J. 2017. Light limitation reduces tolerance to leaf damage in *Datura stramonium*. *Evolutionary Ecology Research*, 18(4), 351-362.
- Coley, P. D., Bryant, J. P., & Chapin, F. S. 1985. Resource availability and plant antiherbivore defense. *Science*, 230(4728), 895-899.
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). 2016 Revisado el día 7 de agosto de 2018 en: <http://www.conabio.gob.mx/>
- Curran, P. J., Dungan, J. L., & Gholz, H. L. 1990. Exploring the relationship between reflectance red edge and chlorophyll content in slash pine. *Tree physiology*, 7(1-2-3-4), 33-48.
- Dalin, P., Ågren, J., Björkman, C., Huttunen, P., & Kärkkäinen, K. 2008. Leaf trichome formation and plant resistance to herbivory. In *Induced plant resistance to herbivory* (pp. 89-105). Springer, Dordrecht.
- Darwin, C. 1956. *The Origin of Species: By means of natural selection or the preservation of favoured races in the struggle for life* (No. 575.0162). Oxford University Press.
- Dávila-Flores, A. M., DeWitt, T. J., & Bernal, J. S. 2013. Facilitated by nature and agriculture: performance of a specialist herbivore improves with host-plant life history evolution, domestication, and breeding. *Oecologia*, 173(4), 1425-1437.
- de Jong, T. J., & Lin, T. 2017. How to quantify plant tolerance to loss of biomass?. *Ecology and evolution*, 7(9), 3080-3086.
- Deol, G. S., Reese, J. C., & Gill, B. S. 1997. A rapid, nondestructive technique for assessing chlorophyll loss from greenbug (Homoptera: Aphididae) feeding damage on sorghum leaves. *Journal of the Kansas Entomological Society*, 305-312.
- Díaz-Montaña, J., Reese, J. C., Schapaugh, W. T., & Campbell, L. R. 2014. Chlorophyll loss caused by soybean aphid (Hemiptera: Aphididae) feeding on soybean. *Journal of economic entomology*, 100(5), 1657-1662.
- Dipp-Alvarez, M., Bello-Bedoy, R. 2015. Variación fenotípica en Resistencia contra herbívoros y éxito reproductivo en cuatro poblaciones silvestres de chiltepín *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*; Solanaceae. (Tesis de pregrado) Universidad Autónoma de Baja California, México.

- Doebley, J. 2004. The genetics of maize evolution. *Annu. Rev. Genet.*, 38, 37-59.
- Elzinga, J. A., Atlan, A., Biere, A., Gigord, L., Weis, A. E., & Bernasconi, G. 2007. Time after time: flowering phenology and biotic interactions. *Trends in Ecology & Evolution*, 22(8), 432-439.
- Estiarte, M., Filella, I., Serra, J., & Penuelas, J. 1994. Effects of nutrient and water stress on leaf phenolic content of peppers and susceptibility to generalist herbivore *Helicoverpa armigera* (Hubner). *Oecologia*, 99(3-4), 387-391.
- Faeth, S. H., Connor, E. F., & Simberloff, D. 1981. Early leaf abscission: a neglected source of mortality for folivores. *The American Naturalist*, 117(3), 409-415.
- Fordyce, J. A., & Agrawal, A. A. 2001. The role of plant trichomes and caterpillar group size on growth and defence of the pipevine swallowtail *Battus philenor*. *Journal of Animal Ecology*, 70(6), 997-1005.
- Fornoni, J., Núñez-Farfán, J., & Valverde, P. L. 2003. Evolutionary ecology of tolerance to herbivory: advances and perspectives. *Comments on Theoretical Biology*, 8(6), 643-663.
- Gaillard, M. D., Glauser, G., Robert, C. A., & Turlings, T. C. 2018. Fine-tuning the plant domestication-reduced defense hypothesis: specialist vs generalist herbivores. *New Phytologist*, 217(1), 355-366.
- Garrido, E. E., & Fornoni, J. 2006. Host tolerance does not impose selection on natural enemies. *New Phytologist*, 170(3), 609-614.
- Gepts, P., & Papa, R. 2002. Evolution during domestication. *Encyclopedia of life sciences*, 1-7.
- Gillespie, K. M., & Ainsworth, E. A. 2007. Measurement of reduced, oxidized and total ascorbate content in plants. *Nature Protocols*, 2(4), 871.
- Gols, R., Bukovinszky, T., Van Dam, N. M., Dicke, M., Bullock, J. M., & Harvey, J. A. 2008. Performance of generalist and specialist herbivores and their endoparasitoids differs on cultivated and wild Brassica populations. *Journal of chemical ecology*, 34(2), 132-143.
- González-Jara, P., Moreno-Letelier, A., Fraile, A., Piñero, D., & García-Arenal, F. 2011. Impact of human management on the genetic variation of wild pepper, *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*. *PLoS One*, 6(12), e28715.
- Hagenbucher, S., Birgersson, G., Chattington, S., & Anderson, P. 2016. Domestication influences choice behavior and performance of a generalist herbivore. *Perspectives in plant ecology, evolution and systematics*, 23, 63-72.
- Hancock, J. F. 2005. Contributions of domesticated plant studies to our understanding of plant evolution. *Annals of Botany*, 96(6), 953-963.

- Handley, R., Ekbom, B., & Ågren, J. 2005. Variation in trichome density and resistance against a specialist insect herbivore in natural populations of *Arabidopsis thaliana*. *Ecological Entomology*, 30(3), 284-292.
- Harlan, J. R., De Wet, J. M. J., & Price, E. G. 1973. Comparative evolution of cereals. *Evolution*, 27(2), 311-325.
- Harper, J. L., & Wallace, H. L. 1987. Control of fecundity through abortion in *Epilobium montanum* L. *Oecologia*, 74(1), 31-38
- Hayano-Kanashiro, C., Gámez-Meza, N., & Medina-Juárez, L. Á. 2016. Wild pepper *Capsicum annum* L. var. *glabriusculum*: Taxonomy, plant morphology, distribution, genetic diversity, genome sequencing, and phytochemical compounds. *Crop Science*, 56(1), 1-11.
- Hermes, D. A., & Mattson, W. J. 1992. The dilemma of plants: to grow or defend. *The quarterly review of biology*, 67(3), 283-335.
- Hernandez-Cumplido, J., Giusti, M. M., Zhou, Y., Kyryczenko-Roth, V., Chen, Y. H., & Rodriguez-Saona, C. 2018. Testing the 'plant domestication-reduced defense' hypothesis in blueberries: the role of herbivore identity. *Arthropod-Plant Interactions*, 12(4), 483-493.
- Hernández-Ortega, M., Ortiz-Moreno, A., Hernández-Navarro, M. D., Chamorro-Cevallos, G., Dorantes-Alvarez, L., & Necochea-Mondragón, H. 2012. Antioxidant, antinociceptive, and anti-inflammatory effects of carotenoids extracted from dried pepper (*Capsicum annum* L.). *BioMed Research International*, 2012.
- Hernández-Verdugo, S., Oyama, K., & Vázquez-Yanes, C. 2001. Differentiation in seed germination among populations of *Capsicum annum* along a latitudinal gradient in Mexico. *Plant Ecology*, 155(2), 245-257.
- Hjältén J. 2008. Simulating Herbivory: Problems and Possibilities. In: Weisser W.W., Siemann E. (eds) *Insects and Ecosystem Function. Ecological Studies (Analysis and Synthesis)*, vol 173. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Hochwender, C. G., Sork, V. L., & Marquis, R. J. 2003. Fitness consequences of herbivory on *Quercus alba*. *The American midland naturalist*, 150(2), 246-254.
- Hoffmann, W. A., & Poorter, H. 2002. Avoiding bias in calculations of relative growth rate. *Annals of botany*, 90(1), 37-42.
- Johannsen, W. 1903. Über Erblichkeit in Populationen und in reinen Linien. *Gustav Fischer Verl, Jena*.
- Karel, A. K., & Rweyemamu, C. L. 1984. Yield losses in field beans following foliar damage by *Ootheca bennigseni* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Economic Entomology*, 77(3), 762-765.

- Kariñho-Betancourt, E., & Núñez-Farfán, J. 2015. Evolution of resistance and tolerance to herbivores: testing the trade-off hypothesis. *PeerJ*, 3, e789.
- Kariñho-Betancourt, E., Agrawal, A. A., Halitschke, R., & Núñez-Farfán, J. 2015. Phylogenetic correlations among chemical and physical plant defenses change with ontogeny. *New Phytologist*, 206(2), 796-806.
- Kariyat, R. R., Hardison, S. B., De Moraes, C. M., & Mescher, M. C. 2017. Plant spines deter herbivory by restricting caterpillar movement. *Biology letters*, 13(5), 20170176.
- Latournerie-Moreno, L., Ic-Caamal, A., Ruiz-Sánchez, E., Ballina-Gómez, H., Islas-Flores, I., Chan-Cupul, W., & González-Mendoza, D. 2015. Survival of *Bemisia tabaci* and activity of plant defense-related enzymes in genotypes of *Capsicum annuum* L. *Chilean journal of agricultural research*, 75(1), 71-77.
- Lehtilä, K., & Boalt, E. 2008. The use and usefulness of artificial herbivory in plant-herbivore studies. In *Insects and ecosystem function* (pp. 257-275). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Leimu, R., & Koricheva, J. 2006. A meta-analysis of tradeoffs between plant tolerance and resistance to herbivores: combining the evidence from ecological and agricultural studies. *Oikos*, 112(1), 1-9.
- Levin, D. A. 1973. The role of trichomes in plant defense. *The quarterly review of biology*, 48(1, Part 1), 3-15.
- Liu, C., Zhong, Z., & Lu, J. 2000. Response of *Capsicum frutescens* metapopulation to simulated insect herbivorous behaviors. *Ying yong sheng tai xue bao= The journal of applied ecology*, 11(1), 115-118.
- Løe, G., Toräng, P., Gaudeul, M., & Ågren, J. 2007. Trichome production and spatiotemporal variation in herbivory in the perennial herb *Arabidopsis lyrata*. *Oikos*, 116(1), 134-142.
- Luginbill, P. 1928. The Fall Armyworm. United States Department of Agriculture, Washington, DC, USA. *Technical Bulletin*, 34.
- M. De Swart, E. A., Marcelis, L. F., & Voorrips, R. E. 2006. Variation in relative growth rate and growth traits in wild and cultivated *Capsicum* accessions grown under different temperatures. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 81(6), 1029-1037.
- Macfadyen, S., & Bohan, D. A. 2010. Crop domestication and the disruption of species interactions. *Basic and Applied Ecology*, 11(2), 116-125.
- Mahoro, S. 2002. Individual flowering schedule, fruit set, and flower and seed predation in *Vaccinium hirtum* Thunb (Ericaceae). *Canadian Journal of Botany*, 80(1), 82-92.
- Marquis, R. J. 1992. The selective impact of herbivores. *Plant resistance to herbivores and pathogens: ecology, evolution, and genetics*. University of Chicago Press, Chicago, 301-325.

- Materska, M., & Perucka, I. 2005. Antioxidant activity of the main phenolic compounds isolated from hot pepper fruit (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(5), 1750-1756.
- Mauricio, R., & Rausher, M. D. 1997. Experimental manipulation of putative selective agents provides evidence for the role of natural enemies in the evolution of plant defense. *Evolution*, 51(5), 1435-1444.
- Mauricio, R., Rausher, M. D., & Burdick, D. S. 1997. Variation in the defense strategies of plants: are resistance and tolerance mutually exclusive?. *Ecology*, 78(5), 1301-1311.
- McNaughton, S. J. 1983. Compensatory plant growth as a response to herbivory. *Oikos*, 329-336.
- Meyer, R. S., DuVal, A. E., & Jensen, H. R. 2012. Patterns and processes in crop domestication: an historical review and quantitative analysis of 203 global food crops. *New Phytologist*, 196(1), 29-48.
- Mithöfer, A., & Boland, W. 2012. Plant defense against herbivores: chemical aspects. *Annual review of plant biology*, 63, 431-450.
- Mongkolporn, O., & Taylor, P. W. 2011. Capsicum. In *Wild Crop relatives: Genomic and breeding resources* (pp. 43-57). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Moscone, E. A., Scaldaferrro, M. A., Grabielle, M., Cecchini, N. M., Sánchez García, Y., Jarret, R., Daviña, J. R., Ducasse, D. A., Barboza, G. E., & Ehrendorfer, F. 2007. The evolution of chili peppers (*Capsicum-Solanaceae*): a cytogenetic perspective. In *VI International Solanaceae Conference: Genomics Meets Biodiversity 745* (pp. 137-170).
- Navon, A., Melamed-Madjar, V., Zur, M., & Ben-Moshe, E. 1991. Effects of cotton cultivars on feeding of *Heliothis armigera* and *Spodoptera littoralis* larvae and on oviposition of *Bemisia tabaci*. *Agriculture, ecosystems & environment*, 35(1), 73-80.
- Nicolai, M., Cantet, M., Lefebvre, V., Sage-Palloix, A. M., & Palloix, A. 2013. Genotyping a large collection of pepper (*Capsicum* spp.) with SSR loci brings new evidence for the wild origin of cultivated *C. annuum* and the structuring of genetic diversity by human selection of cultivar types. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 60(8), 2375-2390.
- Nightingale, G. T., & Farnham, R. B. 1936. Effects of nutrient concentration on anatomy, metabolism, and bud abscission of sweet pea. *Botanical Gazette*, 97(3), 477-517.
- Niinemets, Ü. 1999. Research review. Components of leaf dry mass per area—thickness and density—alter leaf photosynthetic capacity in reverse directions in woody plants. *The New Phytologist*, 144(1), 35-47.
- Núñez-Farfán, J., & Dirzo, R. 1994. Evolutionary ecology of *Datura stramonium* L. in central Mexico: natural selection for resistance to herbivorous insects. *Evolution*, 48(2), 423-436.

- Núñez-Farfán, J., Fornoni, J., & Valverde, P. L. 2007. The evolution of resistance and tolerance to herbivores. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, 38, 541-566.
- Nykänen, H., & Koricheva, J. 2004. Damage-induced changes in woody plants and their effects on insect herbivore performance: a meta-analysis. *Oikos*, 104(2), 247-268.
- Obeso, J. R. 2002. The costs of reproduction in plants. *New phytologist*, 155(3), 321-348.
- Paran, I., & Van Der Knaap, E. 2007. Genetic and molecular regulation of fruit and plant domestication traits in tomato and pepper. *Journal of Experimental Botany*, 58(14), 3841-3852.
- Peng, J. H., Sun, D., & Nevo, E. 2011. Domestication evolution, genetics and genomics in wheat. *Molecular Breeding*, 28(3), 281.
- Perry, L., Dickau, R., Zarrillo, S., Holst, I., Pearsall, D. M., Piperno, D. R., & Raymond, J. S. 2007. Starch fossils and the domestication and dispersal of chili peppers (*Capsicum spp. L.*) in the Americas. *Science*, 315(5814), 986-988.
- Pickersgill, B. 1991. Cytogenetics and evolution of *Capsicum L.* *Chromosome engineering in plants: genetics, breeding, evolution, part B.* Elsevier, Amsterdam, 139-160.
- Pogue, M. G. 2002. A world revision of the genus *Spodoptera* Guenée:(Lepidoptera: Noctuidae).
- Prins, A. H., Verkaar, H. J., & Van Den Herik, M. 1989. Responses of *Cynoglossum officinale L.* and *Senecio jacobaea L.* to various degrees of defoliation. *New Phytologist*, 111(4), 725-731.
- Purugganan, M. D., & Fuller, D. Q. 2009. The nature of selection during plant domestication. *Nature*, 457(7231), 843.
- Qin, C., Yu, C., Shen, Y., Fang, X., Chen, L., Min, J., & Yang, Y. 2014. Whole-genome sequencing of cultivated and wild peppers provides insights into *Capsicum* domestication and specialization. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(14), 5135-5140.
- Rao, G. U., Chaim, A. B., Borovsky, Y., & Paran, I. 2003. Mapping of yield-related QTLs in pepper in an interspecific cross of *Capsicum annum* and *C. frutescens*. *Theoretical and Applied Genetics*, 106(8), 1457-1466.
- Rausher, M. D. 2001. Co-evolution and plant resistance to natural enemies. *Nature*, 411(6839), 857.
- Retuerto, R., Fernandez-Lema, B., & Obeso, J. R. (2004). Increased photosynthetic performance in holly trees infested by scale insects. *Functional Ecology*, 18(5), 664-669.
- Reyes-Escogido, M. D. L., Gonzalez-Mondragon, E. G., & Vazquez-Tzompantzi, E. 2011. Chemical and pharmacological aspects of capsaicin. *Molecules*, 16(2), 1253-1270.

- Richardson, A. D., Duigan, S. P., & Berlyn, G. P. 2002. An evaluation of noninvasive methods to estimate foliar chlorophyll content. *New phytologist*, 153(1), 185-194.
- Rieseberg, L. H., Widmer, A., Arntz, A. M., & Burke, J. M. 2002. Directional selection is the primary cause of phenotypic diversification. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(19), 12242-12245.
- Risley, L. S. 1986. The influence of herbivores on seasonal leaf-fall: Premature leaf abscission and petiole clipping. *Journal of Agricultural Entomology*, 3(2), 152-162.
- Rosenthal, J. P., & Dirzo, R. 1997. Effects of life history, domestication and agronomic selection on plant defence against insects: evidence from maizes and wild relatives. *Evolutionary Ecology*, 11(3), 337-355.
- Sandras, V. O., & Wilson, L. J. 1998. Recovery of cotton crops after early season damage by thrips (Thysanoptera). *Crop Science*, 38(2), 399-409.
- Simms, E. L. 2000. Defining tolerance as a norm of reaction. *Evolutionary Ecology*, 14(4-6), 563-570.
- Smith, B. D. 1997. The initial domestication of *Cucurbita pepo* in the Americas 10,000 years ago. *Science*, 276(5314), 932-934.
- Sparks, A. N. 1979. A review of the biology of the fall armyworm. *Florida Entomologist*, 82-87.
- Smith & Abbot. 1797. *Spodoptera frugiperda* in GBIF Secretariat. 2019. GBIF Backbone Taxonomy. Checklist dataset <https://doi.org/10.15468/39omej> accessed via GBIF.org on 2019-10-24.
- Stenberg, J. A., & Muola, A. 2017. How should plant resistance to herbivores be measured? *Frontiers in plant science*, 8, 663.
- Stephenson, A. G. 1981. Flower and fruit abortion: proximate causes and ultimate functions. *Annual review of ecology and systematics*, 12(1), 253-279.
- Stowe, K. A., Marquis, R. J., Hochwender, C. G., & Simms, E. L. 2000. The evolutionary ecology of tolerance to consumer damage. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 31(1), 565-595.
- Strauss, S. Y., & Agrawal, A. A. 1999. The ecology and evolution of plant tolerance to herbivory. *Trends in Ecology & Evolution*, 14(5), 179-185.
- Sultan, S. E. 2000. Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. *Trends in plant science*, 5(12), 537-542.

- Szczepaniec, A., Widney, S. E., Bernal, J. S., & Eubanks, M. D. 2013. Higher expression of induced defenses in teosintes (*Zea* spp.) is correlated with greater resistance to fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 146(2), 242-251.
- Tiffin, P. 2000. Mechanisms of tolerance to herbivore damage: what do we know?. *Evolutionary Ecology*, 14(4-6), 523-536.
- Turcotte, M. M., Turley, N. E., & Johnson, M. T. 2014. The impact of domestication on resistance to two generalist herbivores across 29 independent domestication events. *New Phytologist*, 204(3), 671-681.
- Valenzuela-Apodaca, E. A. 2016. Respuestas en la defensa contra herbívoros inducidas por daño foliar artificial en *Capsicum annum* var. *serrano*. (Tesis de pregrado) Universidad Autónoma de Baja California, México.
- Valverde, P. L., Fornoni, J., & Núñez-Farfán, J. 2001. Defensive role of leaf trichomes in resistance to herbivorous insects in *Datura stramonium*. *Journal of Evolutionary Biology*, 14(3), 424-432.
- Valverde, P. L., Fornoni, J., & Núñez-Farfán, J. 2003. Evolutionary ecology of *Datura stramonium*: equal plant fitness benefits of growth and resistance against herbivory. *Journal of Evolutionary Biology*, 16(1), 127-137.
- van der Meijden, E., Wijn, M., & Verkaar, H. J. 1988. Defence and regrowth, alternative plant strategies in the struggle against herbivores. *Oikos*, 355-363.
- Varley, G. C. 1967. The effects of grazing by animals on plant productivity. *Secondary productivity of terrestrial ecosystems*, 2, 773-777.
- Vijaya, M., & Rani, P. U. 2017. Defensive responses in *Capsicum annum* (L) plants, induced due to the feeding by different larval instars of *Spodoptera litura* (F). *Arthropod-Plant Interactions*, 11(2), 193-202.
- Welter, S. C., & Steggall, J. W. 1993. Contrasting the tolerance of wild and domesticated tomatoes to herbivory: agroecological implications. *Ecological Applications*, 3(2), 271-278.
- Whitehead, S. R., Turcotte, M. M., & Poveda, K. 2017. Domestication impacts on plant–herbivore interactions: a meta-analysis. *Phil. Trans. R. Soc. B*, 372(1712), 20160034.
- Witkowski, E. T. F., & Lamont, B. B. 1991. Leaf specific mass confounds leaf density and thickness. *Oecologia*, 88(4), 486-493.
- Young, T. P. 1987. Increased thorn length in *Acacia depreanlobium*—an induced response to browsing. *Oecologia*, 71(3), 436-438.
- Zohary, D. 2004. Unconscious selection and the evolution of domesticated plants. *Economic botany*, 58(1), 5-10.

Anexos

Tabla 1. Efectos del tratamiento de daño foliar en plantas de chile silvestre chiltepín y domesticados serrano y poblano.

Carácter	Chiltepín				Serrano				Poblano			
	<i>g.L.</i>	<i>S.C</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>g.L.</i>	<i>S.C</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>g.L.</i>	<i>S.C</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Altura (TRC)	2	4.88x10 ⁻⁶	0.56	0.5769	2	1.4 x10 ⁻⁶	1.14	0.3256	2	1.4 x10 ⁻⁶	1.14	0.3256
Ancho del tallo (TRC)	2	2.04x10 ⁻⁵	0.97	0.3863	2	2.48x10 ⁻⁵	17.52	<.0001**	2	2.48 x10 ⁻⁵	17.52	<.0001**
Número Hojas	2	118.98	2.35	0.1045	2	45.73	12.67	<.0001**	2	45.73	12.67	<.0001**
Contenido de clorofila (ICC)	2	181.11	1.47	0.2389	2	4882.96	58.82	<.0001**	2	4882.96	58.82	<.0001**
Área foliar específica	2	10763.6 2	0.53	0.5903	2	2603.15	2.74	0.0733	2	2603.15	2.74	0.0733
Masa foliar específica	2	0.15x10 ⁻⁵	7.54x10 ⁻⁷	0.2009	2	1.2x10 ⁻⁶	6.02x10 ⁻⁷	0.1111	2	1.2 x10 ⁻⁶	6.02x10 ⁻⁷	0.1111
Número de botones	2	2673.79	2.68	0.0772	2	2228.8	12.99	<.0001**	2	2228.8	12.99	<.0001**
Número de flores	2	46.98	0.93	0.3975	2	4.31	1.56	0.2186	2	4.31	1.56	0.2186
Número total de frutos	2	27.26	3.57	0.0349*	2	0.90	0.2	0.8165	2	0.9	0.2	0.8165
Frutos (biomasa fresca)	2	0.08	2.31	0.1088	2	469.75	4.67	0.0133**	2	469.75	4.67	0.0133**
Frutos (biomasa seca)	2	0.01	1.45	0.2441	2	7.17	3.59	0.0572	2	7.17	3.59	0.0572
Lignificación del tallo	2	0.0004	3.74	0.0300*	2	0.75x10 ⁻⁵	0.65	0.5256	2	0.75 x10 ⁻⁵	0.65	0.5256
Contenido Total de Fenoles	2	15892.0 5	30.9	<0.0001**	2	444.88	16.52	<0.0001**	2	444.88	16.52	<0.0001**
Densidad de tricomas abaxial	2	10.82	0.24	0.7863	2	3.74	4.48	0.0156*	2	3.74	4.48	0.0156*
Densidad de tricomas adaxial	2	140.65	1.19	0.7863	2	17.87	0.76	0.4702	2	17.87	0.76	0.4702

** $P < 0.0001$, * $P < 0.05$.

Tabla 2. Coeficiente de variación y varianza de los tratamientos de daño foliar en plantas de chile silvestre y domesticado.

Carácter	Chiltepín						Serrano						Poblano					
	0%		25%		50%		0%		25%		50%		0%		25%		50%	
	CV	V	CV	V	CV	V	CV	V	CV	V	CV	V	CV	V	CV	V	CV	V
Altura (TRC)	36.6	7 ⁻⁶	38.8	4 ⁻⁵	37.1	0	35.9	0	31.7	4 ⁻⁶	47.2	0	84.2	1 ⁻⁶	60	0	67.0	5 ⁻⁷
Ancho del tallo (TRC)	66.6	8 ⁻⁶	65.6	1 ⁻⁴	56.3	0	35.9	0	27.2	1 ⁻⁶	54	0	31.1	8 ⁻⁷	26.3	0	47.6	6 ⁻⁷
Número de hojas	90.7	30.2	91.3	33.8	108.8	11.8	52.6	10.5	85.9	4.3	188.5	0.6	9.7	0.9	14.1	2.1	13.2	2.4
ICC	47.2	82.7	39.4	35.4	44.4	66.7	36.1	115.6	32.1	149	28.8	115.4	19	18.6	18.0	30.7	20.0	79.6
Área foliar específica	26.6	133.4	23.3	114.6	27.5	135.7	22	17.4	19.6	13.8	38.9	67.9	18	11.8	9.1	3	32.3	48.3
Masa foliar específica	28.4	57.3	18.2	18.5	23.2	35.9	34.2	384.6	17.2	96.9	13.7	55.2	9.6	29.5	7.6	17.4	10.7	31.9
Número de botones	167	171.5	108.6	697.6	95.8	556.9	81	841.0	63.9	319.2	80.3	340.9	46.7	107.8	16.6	33.2	30.2	116.2
Número de flores	151	9.6	157.3	45	153.6	20.5	105.2	93.6	95.9	41.3	115.4	39.5	179.9	2.6	115.6	4.1	125.7	1.6
Frutos (biomasa fresca)	195.4	0	276.7	0	112.8	0	63.3	230.3	37.2	128.8	62.6	205	8.8	44.1	10.3	55.1	10.4	51.7
Frutos (biomasa seca)	176.1	0	205.6	0	109.3	0	56.6	2.9	34.9	1.7	55.9	2.4	11	1	8.8	0.5	17.3	2.1
Número total de frutos	199	0.2	219.6	7.1	108.3	4.2	63.2	56	35.1	27.4	59.6	44.6	67.4	3.2	48.4	1.3	58.8	2.2
Lignificación del tallo (TRC)	70	1 ⁻⁵	41.8	3 ⁻⁵	67.7	0	58.5	0	74.3	2 ⁻⁵	64	0	113.1	1 ⁻⁵	75.9	0	103.5	5 ⁻⁶
Tricomas abaxial	97.2	6	84.4	2.4	264.3	58.8	83.4	885	80.7	723.8	68.4	2839	137.4	2.7	135.2	0.2	168.7	0.4
Tricomas adaxial	81.5	76.7	54.2	15.6	88.1	85.6	51.7	185.8	47.5	156.2	45.2	205.6	56	7.7	72.8	20.9	47.2	6.5
Contenido total de fenoles	28.6	232.0	37.5	505.2	27.1	34.2	22.3	57.6	11.3	14.8	17.7	35.1	14.9	20.1	15.1	14.5	10.2	5.8

Tabla 3. Efectos de la alimentación con plantas de chile silvestre chiltepín y domesticado serrano y poblano en la supervivencia.

	Prueba	χ^2	P
Supervivencia	Verosimilitud	27.57	<.0001**
	Pearson	21.52	<.0001**
Pupa	Verosimilitud	0.19	0.6656
	Pearson	0.19	0.6660
Desarrollo adulto	Verosimilitud	0.53	0.4672
	Pearson	0.52	0.4691



Figura 7. Frutos de chile poblano con diferente desarrollo. Se muestran frutos fisiológicamente maduros de chile poblano de talla comercial (A) y fruto sin desarrollar por completo (B).



Figura 8. Frutos de chile serrano con diferente desarrollo. Se muestran frutos de chile serrano de talla comercial (A) y frutos maduros sin desarrollar por completo (B).

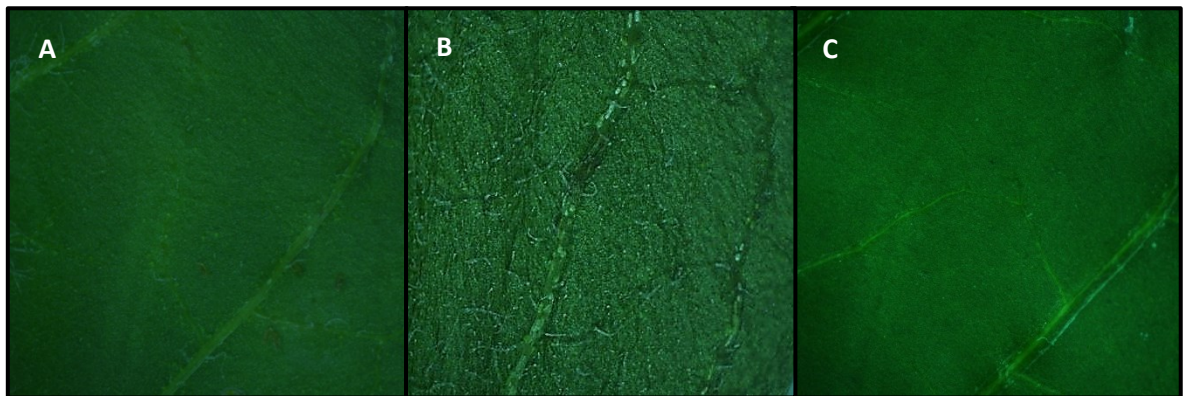


Figura 9. Tricomas foliares en plantas de chile silvestre y domesticado. Se muestran fotografías de la densidad de tricomas en plantas sin daño de chiltepín (A), serrano (B) y poblano (C).