

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS



**VARIACION FENOTIPICA EN RESISTENCIA CONTRA HERBIVOROS Y
EXITO REPRODUCTIVO EN CUATRO POBLACIONES SILVESTRES DE
CHILTEPIN *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*; Solanaceae**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

B I O L O G O

PRESENTA

MELISSA DIPP ALVAREZ

Ensenada, B.C.

15 de mayo de 2015

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS

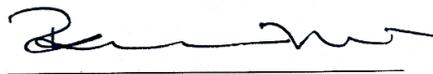
VARIACION FENOTIPICA EN RESISTENCIA CONTRA HERBIVOROS Y
EXITO REPRODUCTIVO EN CUATRO POBLACIONES SILVESTRES DE
CHILTEPIN *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*; Solanaceae

TESIS PROFESIONAL

QUE PRESENTA

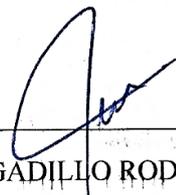
MELISSA DIPP ALVAREZ

APROBADO POR:



DR. RAFAEL BELLO BEDOY

Presidente del Jurado



DR. JOSE DELGADILLO RODRIGUEZ
SECRETARIO

DRA. CLARA HERREU ROMERO
1ER. VOCAL

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer al Dr. Rafael Bello-Bedoy, mi director de tesis, por brindarme la oportunidad de trabajar con él, guiarme en cada paso de este proyecto, compartirme su experiencia, conocimiento y su entusiasmo por la investigación.

A mis sinodales el Dr. José Delgadillo Rodríguez y la Dra. Clara María Hereu, aprecio mucho su consideración, el tiempo que dedicaron a mi escrito y las sugerencias para mejorarlo.

También quiero mencionar mi gratitud hacia mis colegas Erik Díaz y Víctor Dipp, fueron parte importante durante la toma y procesamiento de datos, lloraron, estornudaron y tosieron junto a mí mientras contábamos semillas de chiltepín al ritmo de buena música y siempre con una plática amena. Mostraron su apoyo e interés durante cada etapa de mi tesis, en especial la parte del análisis estadístico.

Gracias infinitas a mi familia. Son el motorcito que me mantiene caminando y buscando superarme día con día.

Por último pero no menos importante, a mis padres. Sin su apoyo incondicional, su constante motivación, su interés por todo lo que hago y su ejemplo de responsabilidad y trabajo, la universidad y mi proyecto de tesis no hubieran sido nada fáciles.

Resumen de la tesis de Melissa Dipp Álvarez presentada como requisito parcial para la obtención de la Licenciatura en Biología. Universidad Autónoma de Baja California, Ensenada, Baja California, México.

VARIACION FENOTIPICA EN RESISTENCIA CONTRA HERBIVOROS Y EXITO REPRODUCTIVO EN CUATRO POBLACIONES SILVESTRES DE CHILTEPIN *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*; Solanaceae

Resumen aprobado:



Dr. Rafael Bello Bedoy

La resistencia contra herbívoros es una característica que ha evolucionado para reducir el daño que causan los herbívoros y su impacto en el éxito reproductivo de las plantas. El nivel de resistencia puede variar entre individuos y poblaciones debido a diferencias en la constitución genética, presencia de diferentes herbívoros o variación ambiental. Para predecir el potencial evolutivo de la defensa en plantas es importante conocer la magnitud de la interacción planta-herbívoro, cuya intensidad puede ser medida a través del daño que sufre la planta y sus consecuencias. Este estudio examina la relación entre la variación fenotípica del daño foliar por herbívoros y el éxito reproductivo del chile silvestre *Capsicum annuum* var. *glabriusculum* (Dunal) Heiser & Pickersgill. En cuatro poblaciones silvestres de chiltepín localizadas en La Paz, Baja California Sur, colectamos muestras de hojas y de frutos de plantas para cuantificar el daño foliar y la densidad de tricomas como una medida de resistencia. Estimamos el éxito reproductivo como el número semillas promedio en 10 frutos. El daño foliar y la densidad de tricomas difirieron significativamente entre poblaciones. La relación entre el daño y el número de tricomas fue negativa. La disminución de área foliar por herbivoría redujo el éxito reproductivo en una de las poblaciones muestreadas, mientras que en otras no. En este estudio demostramos la existencia de variación en la resistencia entre poblaciones de chile silvestre apoyando la ocurrencia de variación interpoblacional a una escala geográfica pequeña. Sin embargo, la ausencia de efecto negativo del daño en el éxito reproductivo en una de las poblaciones sugiere que en esta población la tolerancia al daño puede evolucionar. Este estudio demuestra el potencial de las plantas de chile de desarrollar diferentes estrategias de defensa.

INDICE

	PAGINA
AGRADECIMIENTOS	II
RESUMEN	III
1. INTRODUCCION	1
2. ANTECEDENTES	5
3. OBJETIVOS	7
4. METODOLOGIA	8
4.1 Especie de estudio	8
4.2 Recolecta de material	8
4.3 Medición del área foliar consumida y proporción de daño	11
4.4 Cuantificación de tricomas	11
4.5 Cuantificación de semillas	12
4.6 Análisis estadístico	12
5. RESULTADOS	13
5.1 Variación del daño entre poblaciones	13
5.2 Variación del número de tricomas entre poblaciones	14
5.3 Relación del número de tricomas con el daño	15
5.4 Variación del número de semillas entre poblaciones	16
6. DISCUSION	17
6.1 Variación del daño entre poblaciones	17
6.2 Variación de la resistencia	18
6.3 Efecto de la densidad de tricomas sobre el porcentaje de daño	19
6.4 Variación interpoblacional en éxito reproductivo	20
7. CONCLUSIONES	22
8. LITERATURA CITADA	23

LISTA DE FIGURAS

FIGURA	DESCRIPCION	PAGINA
1	Área de muestreo de <i>Capsicum annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> en Baja California Sur.	10
2	Proporción de daño por planta (promedio \pm ES) para cuatro poblaciones silvestres de chiltepín <i>Capsicum annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> . Letras distintas indican poblaciones con medias significativamente diferentes entre sí, según la prueba de Tukey.	13
3	Número de tricomas foliares (promedio \pm ES) de cuatro poblaciones silvestres de chiltepín <i>Capsicum annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> . Letras distintas indican poblaciones con medias significativamente diferentes entre sí, según la prueba de Tukey.	14
4	Relación entre la densidad de tricomas foliares y la proporción de daño por herbívoros de cuatro poblaciones silvestres de chiltepín <i>Capsicum annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> .	15
5	Número de semillas por fruto (promedio \pm ES) de cuatro poblaciones silvestres de <i>Capsicum annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> . Letras distintas indican poblaciones con medias significativamente diferentes entre sí, según la prueba de Tukey.	16

LISTA DE TABLAS

TABLA	DESCRIPCION	PAGINA
I	Coordenadas geográficas de cuatro poblaciones de <i>Capsicum annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> en el estado de Baja California Sur de donde se colectó material vegetal en Diciembre de 2013 y el número de plantas muestreadas en cada localidad.	9
II	ANOVA de una vía de proporción de daño entre poblaciones.	13
III	ANOVA de una vía de número de tricomas por planta.	14
IV	Regresión lineal entre densidad de tricomas y proporción de daño.	15
V	ANOVA de una vía de número de semillas por fruto	16

1. INTRODUCCION

El consumo de las plantas por los insectos es una de las relaciones más abundantes en la tierra (Futuyma y Agrawal, 2009). Esta interacción constituye casi el 50% de la biodiversidad macroscópica en el planeta (Endara y Coley, 2011). Se ha estimado que los insectos remueven más del 20% de la producción primaria anual neta producida por las plantas, tanto en ecosistemas naturales como manejados (Agrawal, 2011; Carmona *et al.*, 2011). Los insectos, mediante defoliación y otras estrategias de alimentación fitófaga son responsables de alterar el crecimiento, la reproducción y la supervivencia de las plantas (Escarré *et al.*, 1996), y esto se puede reflejar en importantes pérdidas económicas en plantas cultivadas y en la dinámica ecológica y evolutiva de plantas silvestres.

El impacto del daño foliar por herbívoros es un agente de selección natural que ha influenciado la evolución de estrategias de defensa en plantas para reducir su impacto negativo sobre componentes del éxito reproductivo (Juenger *et al.*, 2005). La resistencia y la tolerancia son las dos estrategias que emplean las plantas para defenderse del daño por herbívoros y otros enemigos. La resistencia es definida como la capacidad de las plantas para evadir o reducir el daño en los tejidos que podría tener repercusiones en el crecimiento y la reproducción de la planta (Schneider y Ayres, 2008). Entre otros componentes, los tricomas, metabolitos secundarios y la cantidad de lignina en las hojas y tallos son algunas de las estructuras físicas y químicas que forman parte de la resistencia de las plantas (Anderson y Mitchell-Olds, 2011; Núñez-Farfán *et al.*, 2007; Stinchcombe, 2002). La tolerancia es la capacidad para amortiguar los efectos negativos en el fitness de la

planta una vez que ha ocurrido el daño y es estimada a través de la comparación en el crecimiento y/o adecuación entre organismos con y sin daño así como la diferencia entre el número de frutos y semillas entre plantas con daño y sin daño (Schneider y Ayres, 2008; Strauss y Agrawal, 1999). Para amortiguar el efecto del daño, las plantas responden por medio de diferentes mecanismos fisiológicos que incluyen un incremento en la tasa relativa de crecimiento (i.e., RGR por sus siglas en inglés: *relative growth rate*) para reponer el área fotosintética perdida en las hojas o tallos (Tiffin, 2000), y el aumento en el contenido de nitrógeno para incrementar la fotosíntesis y la reasignación de recursos. Estas estrategias repercuten en un mayor éxito reproductivo (Espinosa y Fornoni, 2006; Núñez-Farfán *et al.*, 2007; Stinchcombe, 2002).

A pesar del arsenal defensivo que presentan las plantas, tanto cultivadas como silvestres, se puede observar una variación fenotípica en la cantidad de daño que reciben. Una explicación para esta variación puede ser la cantidad diferencial de recursos que asigna una planta a funciones defensivas o de crecimiento y reproducción (Núñez-Farfán *et al.*, 2007). La disyuntiva entre asignar a una u otra función es el resultado de la limitada disponibilidad de recursos en la que crecen los individuos así como el componente genético de las plantas. Por ejemplo, la inversión en estas defensas resulta costoso para las plantas (Karban *et al.*, 1997; Karban y Myers, 1989) pues, desde la diferenciación celular, una parte de los recursos energéticos son utilizados para formar la anatomía y los metabolitos que dotarán a las plantas de mecanismos de resistencia, mientras que la otra parte de los recursos es destinada al crecimiento y reproducción (Herms y Mattson, 1992). Sin embargo, hay

plantas que debido a la plasticidad de su fenotipo sólo expresan los caracteres de defensa cuando detectan el daño (Quintana-Rodríguez *et al.*, 2014). Ésto les permite utilizar la energía para crecimiento o reproducción cuando no hay presencia de herbívoros e inducir las defensas cuando sea necesario, así la planta estará lista para un ataque subsecuente (Agrawal *et al.*, 2002; Karban y Myers, 1989). Es decir, en poblaciones de plantas en donde el número de individuos del herbívoro depredador varía en tiempo y espacio (la ocurrencia del daño es impredecible), la selección natural favorecería a la tolerancia y a las defensas inducidas dado que mantener defensas constitutivas (i.e., defensas todo el tiempo presentes) implicaría un costo biosintético y ecológico alto (Agrawal *et al.*, 2002; Dicke y Hilker, 2003). Por otro lado, la selección favorecería a la resistencia si el hecho de asignar recursos a mantener las defensas para prevenir el daño por herbivoría le confiere un beneficio a la planta y este fenotipo es heredable. Encontrar variación en la resistencia y el éxito reproductivo (tolerancia) entre poblaciones de una misma especie sería lo más probable.

Además de la herbivoría, existen otros factores que pueden explicar la variación en la asignación de recursos para las diferentes estrategias de defensa. Es por esto que manipular a las especies y a los agentes selectivos tanto bióticos como abióticos, puede ayudar a resolver cuáles condiciones ambientales promueven la evolución de un patrón mixto en estrategias de defensa (Núñez-Farfán *et al.*, 2007).

Es importante mencionar que en caso de que la planta esté bien protegida por sus defensas constitutivas contra cierto herbívoro, sería redundante asignar recursos para inducir respuestas, por lo que no se observará un cambio en la resistencia (Karbon y

Myers, 1989). Sin embargo, existen otras plantas que se vuelven más susceptibles a ataques posteriores (Karban, 2011). Conocer los mecanismos de defensa a la herbivoría, tanto constitutivos como inducidos, es de gran importancia en la agricultura para entender la dinámica evolutiva de los sistemas defensivos de las plantas. Esta información puede ser útil para estudios de control de plagas e ingeniería genética (Dicke y Hilker, 2003).

Este estudio examina la relación entre la variación fenotípica del daño foliar por herbívoros y la densidad de tricomas, así como el éxito reproductivo en poblaciones silvestres de chiltepín *Capsicum annuum* var. *glabriusculum* para caracterizar sus estrategias defensivas y su variación en una escala geográfica pequeña.

2. ANTECEDENTES

Desde que la evolución de las interacciones planta-herbívoro fue descrita por Ehrlich y Raven (1964) una gran cantidad de investigadores en el ramo de la ecología y la evolución se ha dedicado al estudio de las estrategias de defensa tanto constitutivas como inducidas en diversas especies vegetales de importancia económica y ecológica (Agrawal *et al.*, 1999; Poelman *et al.*, 2010; Rostás *et al.*, 2002; Simonsen y Stinchcombe, 2007; Vergés *et al.*, 2008).

En cuanto a la evolución de la resistencia y la tolerancia Nuñez-Farfán y Dirzo (1994) probaron por primera vez en poblaciones de *Datura stramonium* (toloache) que los herbívoros constituyen un agente selectivo para la evolución de la resistencia. Detectaron selección fenotípica direccional para plantas con mayor tamaño y menor resistencia al coleóptero *Epitrix párvula* , mientras que se reveló que existe selección fenotípica estabilizadora para la resistencia al ortóptero *Sphenarium purpurascens*. La selección natural actúa en los fenotipos, y la detección de selección fenotípica en la resistencia a herbívoros confirma la importancia ecológica de ésta para determinar el fitness de la planta.

Un número importante de estudios ha demostrado que los tricomas tienen un papel importante en la defensa contra insectos y que maximizan el éxito reproductivo de las plantas que los poseen. Por ejemplo, Mauricio (1998) detectó una relación negativa entre la variación en la densidad de tricomas y el daño por herbívoros, en la planta *Arabidopsis thaliana* demostrando claramente su papel defensivo. Por otro lado, Valverde *et al.* (2001) atribuyeron el papel de la densidad de tricomas foliares como un componente de la resistencia a herbívoros en seis poblaciones de *Datura*

stramonium. En cada una de las poblaciones encontraron una relación negativa significativa entre la densidad de tricomas y el daño, apoyando su papel defensivo. Además, se detectó selección direccional positiva sobre la densidad de los tricomas en tres de seis poblaciones, indicando que el daño por herbívoros está actuando como un agente selectivo sobre la defensa en *Datura stramonium*.

Las plantas de chile silvestre *Capsicum annuum* var. *glabriusculum* poseen en sus hojas abundante pubescencia que puede ser un componente de la resistencia contra herbívoros, aunado a la potencial presencia de sustancias químicas. Sin embargo, se ha estudiado poco sobre sus interacciones ecológicas (Pagan *et al.*, 2010). En cuanto a la herbivoría en *C. annuum* var. *glabriusculum*, actualmente no existen registros de herbívoros que afecten a las hojas, tallos o raíces y mucho menos existen descripciones de interacciones planta-herbívoro que impliquen cambios en la fenología del organismo relacionados con las estrategias de defensa. Debido a que el modo principal de reproducción del chiltepín es por semilla, es de esperarse que el impacto del daño por herbívoros influya en la evolución de su fenotipo, seleccionando a plantas que posean características heredables que les confieran un éxito reproductivo mayor. Se considera que organismos del género *Lema* (Coleóptera:Chrysomelidae) podrían ser consumidores potenciales pues ha sido demostrado en laboratorio que éstos pueden alimentarse de hojas de solanáceas cultivadas, tales como *D. stramonium*, *Solanum lycopersicum* y *Capsicum annuum* (Kogan y Goeden, 1971; Bello-Bedoy y Núñez-Farfán, 2010; Bello-Bedoy y Núñez-Farfán, 2011).

El chiltepín posee alta importancia biológica, cultural y económica en México porque es el ancestro de una gran cantidad de variedades domesticadas de chile (*C. annuum*) que son ampliamente comercializadas y utilizadas en la gastronomía mexicana (Pagán *et al.*, 2010). Además, las especies silvestres son reservorios de la variación genética original que puede tener amplio valor en su conservación y uso en biotecnología, como en detectar los genes relevantes en la resistencia contra herbívoros y patógenos que ya están ausentes en las plantas cultivadas. A pesar de la importancia biológica, no se han realizado estudios detallados que permitan conocer aspectos ecológicos y evolutivos relevantes de sus interacciones con enemigos naturales como herbívoros y/o patógenos.

3. OBJETIVOS

- Estimar si existen diferencias en la producción de frutos y semillas en cuatro poblaciones de *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*.
- Evaluar las diferencias en las estrategias defensivas contra herbívoros, expresadas en número de semillas viables por fruto y proporción de daño.
- Conocer aspectos ecológicos y evolutivos de la interacción del chiltepín con enemigos naturales en poblaciones silvestres.

4. METODOLOGIA

4.1 Especie de estudio

El chile silvestre *Capsicum annuum* var. *glabriusculum* (Dunal) Heiser & Pickersgill; Solanaceae, es un subarbusto longevo que mide de 50 centímetros a tres metros. Su centro de origen es el sur de México y se distribuye desde el sur de Estados Unidos hasta Perú en sitios montañosos cerca de arroyos y cañones (Araiza *et al.*, 2011; Hernández-Verdugo *et al.*, 2001). Produce hojas y florece durante la temporada de lluvias, su fructificación alcanza hasta el mes de diciembre en algunas poblaciones. Sus hojas pueden ser dañadas por herbívoros aún sin registrar y por virus en algunas poblaciones (Pagán *et al.*, 2010). Sin embargo, se ha detectado que algunos herbívoros no consumen esta variedad de chiles y otros sufren severos daños como inflamaciones (Bello-Bedoy, datos sin publicar). El fruto es una baya redonda y pequeña de coloración verde en su estado inmaduro y que se vuelve de color rojo al madurar. Es consumido en su mayoría por humanos, quienes le dan uso medicinal y alimenticio (Araiza *et al.*, 2011; Hernández-Verdugo *et al.*, 2001) y también por aves.

4.2 Recolecta de material

En diciembre de 2013 se realizó una recolecta de hojas y frutos de plantas de *Capsicum annuum* var. *glabriusculum* en cuatro poblaciones silvestres localizadas en la base de Sierra la Laguna en Baja California Sur (Tabla I, Figura 1). En cada una de las poblaciones, las plantas fueron marcadas y numeradas con un número de identificación por localidad. Se consideraron todas las plantas de la localidad y de cada una se colectó una muestra de al menos 10 frutos y 20 hojas. Las hojas se

expandieron sobre papel periódico, donde se anotó la localidad y número de identificación en la localidad. Una vez ordenadas, cuidando que no se doblaran, fueron prensadas y se secaron a temperatura ambiente en un invernadero. Los frutos fueron colectados en bolsas de papel y se anotó en cada bolsa el número de la localidad y el número de identificación de la planta.

Tabla I. Coordenadas geográficas de cuatro poblaciones silvestres de chiltepín *Capsicum annuum* var. *glabriusculum* en el estado de Baja California Sur de donde se colectó material vegetal en diciembre de 2013 y el número de plantas muestreadas en cada localidad.

Localidad	No. de plantas	Latitud	Longitud	Altitud
1	14	23°42'55.7"N	109°59'59.3"W	653
2	23	23°42'24.3"N	110°00'11.6"W	625
3	9	23°45'47.6"N	119°58'29.8"W	523
4	25	23°41'54.3"N	109°59'40.7"W	652

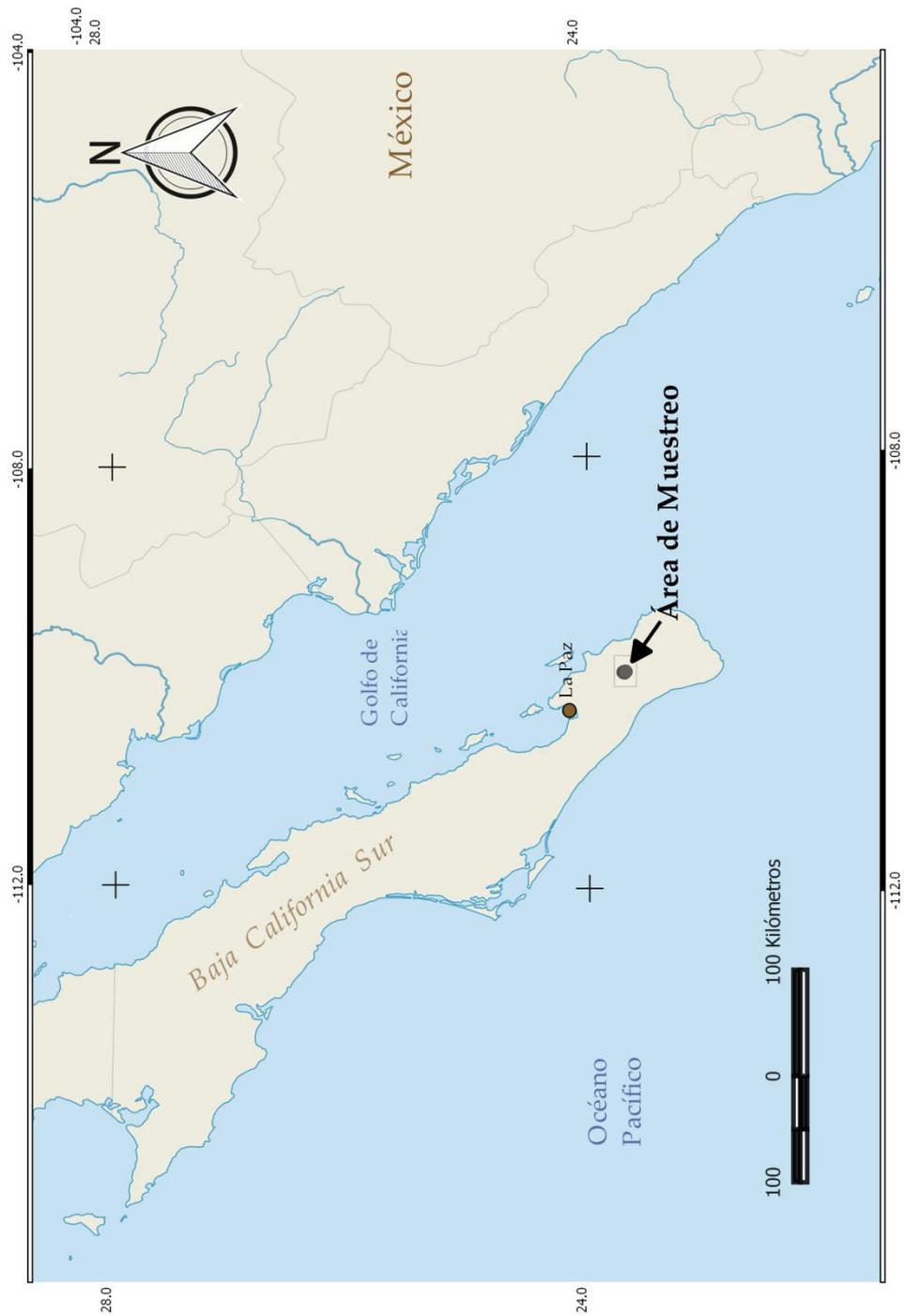


Figura 1. Área de muestreo de *C. annuum* var. *glabriusculum* en Baja California Sur.

4.3 Medición del área foliar consumida y la proporción de daño

Se calculó el área foliar total (i.e., área de la hoja entera sin efecto de la herbivoría) y el área remanente (área de la hoja con signos de herbivoría) de 20 hojas de cada planta recolectada en los cuatro sitios de la siguiente manera: con un scanner se digitalizaron las hojas de cada planta y con el programa ImageJ (Rasband, W.S., U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA), diseñado para procesar y analizar imágenes en Java, se obtuvieron los valores del área remanente. Con el mismo software se hizo una reconstrucción de las hojas para obtener el área total tomando en cuenta la forma de la hoja y dibujando su contorno. El área foliar consumida o área dañada, resulta de la resta del área total menos el área remanente. Posteriormente se calculó la proporción de daño en cada planta con la siguiente fórmula:

$$D_i = \left(\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{A_D}{A_T} \right),$$

Donde A_D y A_T son el área dañada y total de la hoja, respectivamente, y n es el número de hojas por planta (Bello-Bedoy y Núñez-Farfán, 2010).

4.4 Cuantificación de tricomas

La resistencia se estimó como el número de tricomas dentro de un área de 7 mm^2 (densidad de tricomas) en el haz de la hoja. Se utilizaron para esto 10 hojas de cada planta. Para facilitar el conteo se utilizó una placa de aluminio con la perforación de 7 mm^2 y un microscopio estereoscópico. Se calculó el número promedio de tricomas por planta.

4.5 Cuantificación de semillas

Del material recolectado se tomaron 10 frutos de cada planta y se contó el número de semillas viables por fruto. Se descartaron las que presentaron coloración oscura (necrosis). Posteriormente se obtuvo el número promedio de semillas por planta.

4.6 Análisis estadístico

Para evaluar si existe variación fenotípica entre las cuatro poblaciones de Chile silvestre, a los datos de proporción de daño por planta, número de semillas por fruto por planta y densidad de tricomas por planta, se les aplicó un análisis de varianza de una vía comparando los valores de las cuatro poblaciones entre sí. Para realizar el análisis estadístico, los valores de densidad de tricomas por planta fueron transformados a la raíz cuadrada, el número de semillas por fruto por planta fue transformado a logaritmo base-10 y a la proporción de daño por planta se le aplicó la transformación arcoseno para normalizar distribución del error (Sokal y Rohlf, 1995). Se utilizaron los valores sin transformar de todas las variables para graficar resultados.

5. RESULTADOS

5.1 Variación del daño entre poblaciones

El daño encontrado en las hojas de las plantas de chile difirió significativamente entre poblaciones ($F= 10.97$, $gl= 3$; $p<0.0001$; Tabla II). En las poblaciones 1, 2 y 3, el valor promedio del daño por planta varió entre 8 y 12%, mientras que el daño promedio en la población número 4 fue igual a 3.8% (Fig. 2), siendo ésta última la única en la que se detectó una diferencia significativa en la magnitud del daño foliar respecto de las otras tres poblaciones ($Q= 2.63$; $\alpha < 0.05$; Fig 2).

Tabla II. ANOVA de una vía de proporción de daño entre poblaciones

Fuente de variación	<i>gl</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
Tratamiento	3	0.3625523	0.120851	10.9736	<.0001*
Error	66	0.7268466	0.011013		
Total	69	1.0893989			

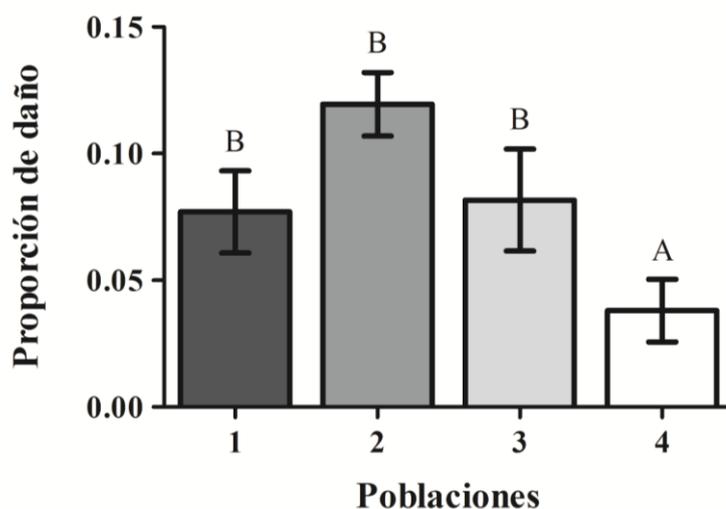


Figura 2. Proporción de daño por planta (promedio \pm ES) para cuatro poblaciones silvestres de chiltepín *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*. Letras distintas indican poblaciones con medias significativamente diferentes entre sí, según la prueba de Tukey.

5.2 Variación del número de tricomas entre poblaciones

El análisis de varianza reveló diferencias significativas en el número de tricomas por planta entre las cuatro poblaciones ($F= 7.96$; $gl= 3$; $P < 0.0001$; Tabla III), siendo la población número 4 la que se mostró significativamente distinta de las otras ($Q= 2.63$; $\alpha= 0.05$). El número promedio de tricomas en 7 mm^2 varió de ~ 3.4 a 3.7 en las poblaciones 1, 2 y 3 mientras que para la población 4 el promedio fue de 5.9 tricomas/ 7 mm^2 (Figura 3).

Tabla III. ANOVA de una vía de número de tricomas por planta

Fuente de variación	<i>gl</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
Tratamiento	3	4.907147	1.63572	8.9419	<.0001*
Error	66	12.073164	0.18293		
Total	69	16.980031			

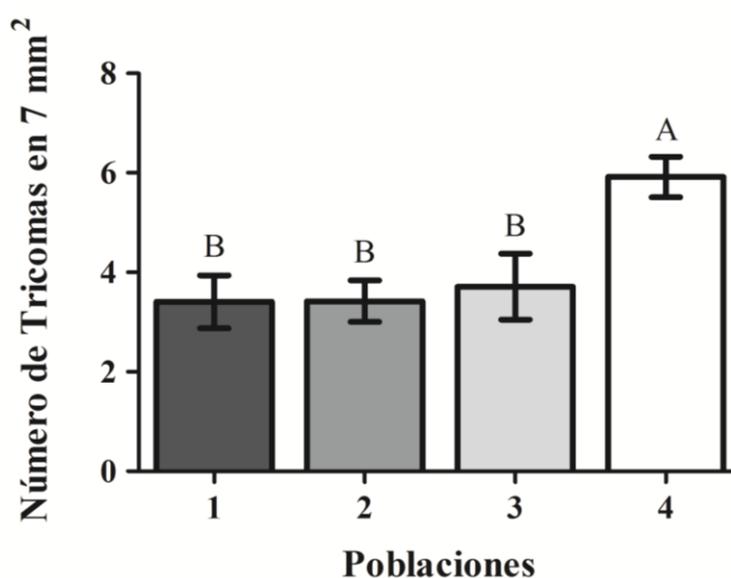


Figura 3. Número de tricomas foliares (promedio \pm ES) de cuatro poblaciones silvestres de chiltepín *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*. Letras distintas indican poblaciones con medias significativamente diferentes entre sí, según la prueba de Tukey.

5.3 Relación del número de tricomas con el daño

El análisis de regresión mostró una relación negativa significativa entre la densidad de tricomas y la proporción de daño por herbivoría ($F_{(1,68)} = 5.51$, $p = 0.02$; Tabla IV, Figura 4), sugiriendo un rol defensivo de este carácter; mientras más tricomas, menos área foliar consumida.

Tabla IV. Regresión lineal entre densidad de tricomas y proporción de daño

Fuente de variación	gl	SS	MS	F	p
Tratamiento	1	0.02394418	0.023944	5.5198	<.0217
Error	68	0.29497630	0.004338		
Total	69	0.31892047			

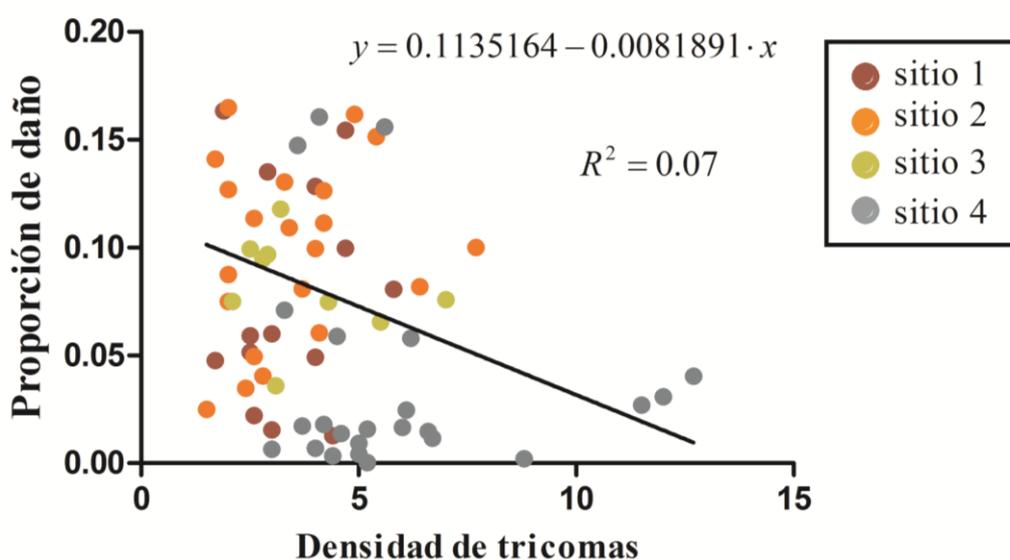


Figura 4. Relación entre la densidad de tricomas foliares y la proporción de daño por herbívoros de cuatro poblaciones silvestres de chiltepin *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*.

5.4 Variación del número de semillas entre poblaciones

El número de semillas varió significativamente entre las poblaciones silvestres de chiltepín ($F= 9.08$, $gl= 3$, $p<0.0001$; Tabla V, Figura 5). El número de semillas promedio por fruto varió de ~7.63 a 15.25. La prueba de Tukey mostró que las poblaciones 2 y 4 produjeron, en promedio, un número de semillas por fruto significativamente mayor (casi el doble) que las poblaciones 1 y 3 ($Q= 2.63$, $\alpha= 0.05$; Figura 5).

Tabla V. ANOVA de una vía de número de semillas por fruto

Fuente de variación	<i>gl</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
Tratamiento	3	2.7200176	0.906673	9.0894	<.0001
Error	66	6.5835213	0.099750		
Total	69	9.3035389			

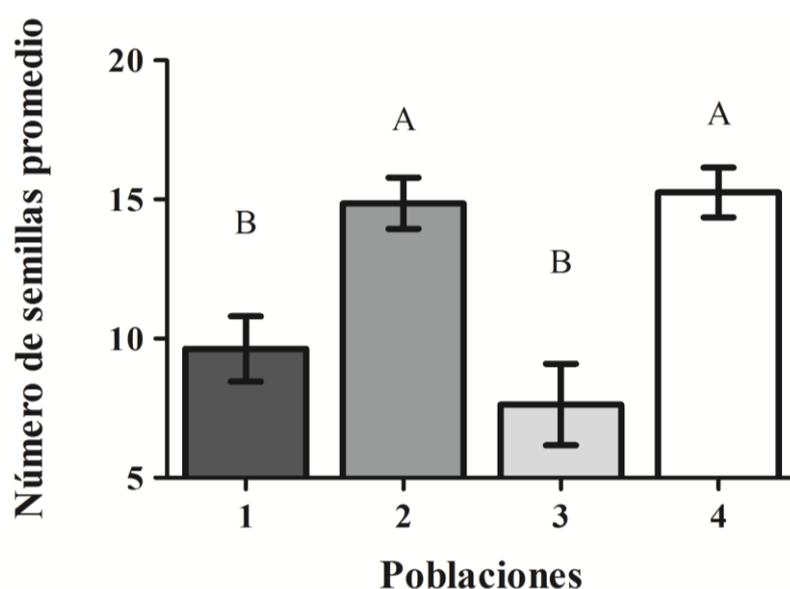


Figura 5. Número de semillas por fruto (promedio \pm ES) de cuatro poblaciones silvestres de *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*. Letras distintas indican poblaciones con medias significativamente diferentes entre sí, según la prueba de Tukey.

6. DISCUSION

La variación fenotípica es uno de los rasgos más comunes en las variaciones naturales de poblaciones. Es originada por patrones distintos de selección en los rasgos defensivos de resistencia y tolerancia como resultado de distintos factores ecológicos. Entender las causas ecológicas y evolutivas responsables de dicha variación, son relevantes para predecir la evolución.

6.1 Variación del daño entre poblaciones

En la mayoría de los estudios que comparan el daño por herbivoría entre poblaciones de la misma especie se han encontrado diferencias, indicando que la variación interpoblacional del daño por herbivoría es un fenómeno común (Mauricio y Rausher, 1997; Mauricio, 1998; Moles *et al.*, 2011). Por ejemplo, Valverde *et al.* (2001) encontraron diferentes niveles promedio de daño entre poblaciones silvestres de *Datura stramonium* (solanácea). De manera similar, el presente estudio detectó diferencias significativas en el porcentaje de daño foliar entre poblaciones de chile silvestre, aunque solo en una de ellas (la población cuatro) la proporción del daño por herbivoría fue significativamente menor que en el de las otras tres. Esto puede ser debido a que las poblaciones muestreadas no estaban tan alejadas geográficamente y probablemente no están bajo presiones ambientales muy diferentes, o bien, a que la proporción de daño que causan los herbívoros en las poblaciones es relativamente baja (menor al 12% del área foliar total) comparado con un daño de entre 10 y el 50% del área foliar en *D. stramonium* reportado por Valverde *et al.* (2001), esto posiblemente reduce la probabilidad de detectar diferencias significativas entre las poblaciones 1, 2 y 3.

Sin embargo esta cantidad de daño, a pesar de ser reducida, puede ser relevante para la evolución de la resistencia en esta especie, en caso de que exista una relación entre esta variable y las estructuras o compuestos que limitan el consumo de tejido foliar por herbívoros. La resistencia contra los insectos es uno de los factores que pueden explicar las diferencias en la magnitud del daño.

6.2 Variación de la resistencia

Los tricomas son uno de los mecanismos de resistencia más conocidos en las plantas, lo que sugiere que las plantas con más tricomas deberían de presentar menos daño foliar que las que tienen menos tricomas. En otras palabras, se esperaría encontrar una relación negativa entre la cantidad de tricomas y el daño foliar.

En este estudio encontramos que existe variación fenotípica en la densidad de tricomas entre las poblaciones silvestres de chiltepín de B.C.S. estudiadas. Otros estudios con poblaciones silvestres también demuestran una variación interpoblacional significativa para la densidad de tricomas (Mauricio, 1998; Valverde *et al.*, 2001; Handley *et al.*, 2005). La diversidad de este carácter fenotípico puede ser causada por factores genéticos y ambientales y su interacción (Falconer *et al.*, 1996), así como por diferencias en los procesos de desarrollo que producen variación entre individuos (Futuyma y Agrawal, 2009). Roy *et al.* (1999) mencionan que los tricomas podrían estar correlacionados con otras características de la hoja, por consiguiente, la selección en esos caracteres podría producir cambios en la densidad de tricomas.

Si la densidad de tricomas es un componente de la resistencia, el hecho de que existan diferentes valores para este carácter indica que debe haber también un éxito reproductivo diferencial, lo que posteriormente originaría selección natural para el número de tricomas que asegure un mayor éxito reproductivo. De esta manera las diferencias en el número de tricomas encontradas en las poblaciones podrían estar determinadas por la diferente presión selectiva de los herbívoros en cada población (Marquis, 1992; Castillo *et al.*, 2013).

La resistencia natural a herbívoros con base en la densidad de tricomas tiene gran potencial biotecnológico como mecanismo para el manejo de plagas en cultivos domesticados, reduciendo el uso de pesticidas y evitando que los insectos se vuelvan resistentes a los pesticidas (Holeski, 2007; Tian *et al.*, 2012). En la actualidad, se experimenta con la aplicación de metil jasmonatos para inducir la formación de tricomas en plantas domesticadas e impedir el herbivorismo así como la aplicación de técnicas de purificación de tricomas y PCR para cuantificar la expresión genética de los tricomas y seleccionar plantas con una mayor expresión (Tian *et al.* 2012).

6.3 Efecto de la densidad de tricomas sobre el porcentaje de daño

Mauricio (1987) encontró que familias de plantas con niveles más altos de tricomas experimentaron menor daño foliar que las familias con menores niveles de este carácter y que la densidad de tricomas está correlacionada negativamente con el daño foliar.

Para conocer el efecto real de la densidad de tricomas sobre el daño se realizó un análisis de regresión. El gráfico muestra que varió entre las plantas y la pendiente fue

negativa, detectando un efecto negativo de la densidad de tricomas sobre la proporción de daño (Fig. 3). Esto concuerda con los resultados de Mauricio (1998) antes mencionados. En otras palabras, el análisis de regresión indica que, a mayor densidad de tricomas corresponde una menor área foliar consumida, favoreciéndose de manera general la resistencia como estrategia de defensa y confirmando la densidad de tricomas como un componente de esta estrategia.

6.4 Variación interpoblacional en éxito reproductivo

En este estudio se utilizó el número de semillas por fruto promedio de las plantas de cada población como un indicador potencial del éxito reproductivo. Las poblaciones 1 y 3 mostraron una reducción promedio del 30% en el número de semillas por fruto con respecto a las poblaciones dos y cuatro. Esta diferencia puede ser explicada por una limitación de polen pero, ya que *Capsicum annuum* var. *glabriusculum* puede auto fertilizarse, esta opción se descartaría y las diferencias se le atribuirían a algún otro factor ambiental no identificado pues el daño y la densidad de tricomas en las poblaciones 1 y 3 no fueron significativamente distintos.

Las poblaciones 2 y 4 tuvieron un número de semillas por fruto similar a pesar de que difirieron en el porcentaje de daño por herbivoría y en la densidad de tricomas. De acuerdo a la literatura, en una población que experimenta menos daño (es más resistente) y tiene un éxito reproductivo mayor, se estaría favoreciendo la resistencia como estrategia de defensa. Las observaciones en la población cuatro son consistentes con este patrón de resistencia. Por otro lado, una población que es más dañada por sus depredadores naturales pero al final su éxito reproductivo no se ve disminuido, es identificada como tolerante y sería favorecida por la selección natural

en un ambiente donde sus depredadores varían en tiempo y espacio (Agrawal *et al.*, 2002; Dicke y Hilker, 2003). La población número dos mostró un patrón consistente con una estrategia de tolerancia como ésta.

A partir de estos resultados en poblaciones silvestres de chiltepín, se pueden desarrollar estudios bajo condiciones controladas que permitan detectar cómo se comporta esta especie a distintos niveles de daño foliar, que demuestren también si *C. annuum* var. *glabriusculum* es capaz de inducir defensas como lo hacen otras solanáceas o que exploren a mayor detalle la variación fenotípica entre las poblaciones con el afán de detectar las bases genéticas que le permitan a la especie heredar los caracteres que le confieran un mayor éxito reproductivo.

7. CONCLUSIONES

Se detectaron diferencias significativas en la proporción de daño por herbivoría entre poblaciones silvestres de chiltepín de *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*. Esta variación puede ser relevante para la evolución de la resistencia en esta especie.

Existe variación fenotípica interpoblacional en la densidad de tricomas que podría estar causada por diferentes factores, como la ocurrencia de una distinta presión selectiva de los herbívoros en cada población, por factores genéticos, ambientales y su interacción. Es necesario un experimento en condiciones ambientales controladas en donde se manipule también la proporción de daño por herbívoros para que sea posible determinar qué fracción de la variación en la densidad de tricomas es genética y cómo responde éste carácter de resistencia a la selección.

Se encontró también una relación negativa entre la densidad de tricomas foliares y la proporción de daño, lo cual sugiere que la densidad de tricomas posee un rol defensivo contra la herbivoría en las poblaciones de chiltepín estudiadas.

Diferencias significativas en el número de semillas promedio por fruto del chiltepín silvestre *C. annuum* var. *glabriusculum* indican que existe variación interpoblacional en el éxito reproductivo. Debido a que las poblaciones 2 y 4 tienen un número de semillas por fruto similar y a que poseen valores distintos en proporción de daño y número de tricomas, se puede concluir que la población 2 es tolerante a la herbivoría (alta proporción de daño y bajo número de tricomas) mientras que la población 4 es resistente (baja proporción de daño y alta densidad de tricomas).

8. LITERATURA CITADA

- Agrawal, A.A., Conner, J.K., Johnson, M.T.J., y Wallsgrove, R. 2002. Ecological Genetics of an Induced Plant Defense Against Herbivores: Additive Genetic Variance and Costs of Phenotypic Plasticity. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 56 (11): 2206–13.
- Agrawal, A.A. 2011. Current Trends in the Evolutionary Ecology of Plant Defence. *Functional Ecology*, 25 (2): 420–432.
- Agrawal, A.A., Gorski, P., Y Tallamy, D. 1999. Polymorphism in Plant Defense Against Herbivory: Constitutive and Induced Resistance in *Cucumis sativus*. *Journal of Chemical Ecology*, 25 (10): 2285–2304.
- Anderson, J.T. y Mitchell-Olds, T. 2011. Ecological Genetics and Genomics of Plant Defenses: Evidence and Approaches. *Functional Ecology*, 25 (2): 312–324.
- Araiza, N., Araiza, E. y Martínez, J.G. 2011. Evaluación de la Germinación y Crecimiento de Plántula de Chiltepín (*Capsicum annuum L* variedad *glabriusculum*) en Invernadero. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 13 (2): 170–175.
- Bello-Bedoy, R., Núñez-Farfán, J. 2010. Cost of Inbreeding in Resistance to Herbivores in *Datura stramonium*. *Annals of Botany*, 105: 747-753.
- Bello-Bedoy, R. y Núñez-Farfán, J. 2011. The Effect of Inbreeding on Defence Against Multiple Enemies in *Datura stramonium*. *Journal of Evolutionary Biology*, 24: 518-530.

- Carmona, D., Lajeunesse, M.J. y Johnson, M.T.J. 2011. Plant Traits that Predict Resistance to Herbivores. *Functional Ecology*, 25 (2): 358–367.
- Castillo, G., Cruz, L.L., Hernández-Cumplido, J., Oyama, K., Flores-Ortiz, C.M., Fornoni, J., Valverde, P.L. y Núñez-Farfán, 2013. Geographic Association and Temporal Variation of Chemical and Physical Defense and Leaf Damage in *Datura stramonium*. *Ecological Research*, 28 (4): 663-672.
- Dicke, M., y Hilker, M. 2003. Induced Plant Defences: From Molecular Biology to Evolutionary Ecology. *Basic and Applied Ecology*, 4 (1): 3–14.
- Ehrlich, P.R. y Raven, P.H. 1964. Butterflies and Plants : A Study in Coevolution. *Evolution*, 18 (4): 586–608.
- Endara, M.J. y Coley, P.D. 2011. The Resource Availability Hypothesis Revisited: A Meta-analysis. *Functional Ecology*, 25 (2): 389–398.
- Escarré, J., Lepart, J., y Sentuc, J.J. 1996. Effects of Simulated Herbivory in Three Old Field Compositae with Different Inflorescence Architectures. *Oecologia*, 105 (4): 501–508.
- Espinosa, E. y Fornoni, J. 2006. Host Tolerance Does Not Impose Selection On Natural Enemies. *New Phytologist*, 170 (3): 609-614.
- Falconer, D. S., Mackay, T. F., y Frankham, R. (1996). Introduction to Quantitative Genetics (4ta edn). *Trends in Genetics*, 12(7): 280.
- Futuyma, D.G. y Agrawal, A.A. 2009. Macroevolution and the Biological Diversity of Plants and Herbivores. *PNAS*, 106 (43): 18054-18061.

- Handley, R., Ekbom, B. y Agren, J. 2005. Variation in Trichome Density and Resistance Against a Specialist Insect Herbivore in Natural Populations of *Arabidopsis thaliana*. *Ecological Entomology*, 30: 284-292.
- Harms, D.A. y Mattson, W. J. 1992. The Dilemma of Plants: To Grow or Defend. *The Quarterly Review of Biology*, 67 (3): 283–335.
- Hernández-Verdugo, S., Oyama, K. y Vázquez-Yanes, C. 2001. Differentiation in Seed Germination Among Populations of *Capsicum annuum* Along a Latitudinal Gradient in Mexico. *Plant Ecology*. 155, 245–257.
- Holeski, L.M. 2007. Within and Between Generation Phenotypic Plasticity in Trichome Density of *Mimulus guttatus*. *Journal of Evolutionary Biology*, 20 (6): 2092-2100
- Juenger, T., Morton, T.C., Miller, R.E., y Bergelson, J. 2005. Scarlet Gilia Resistance to Insect Herbivory: The Effects of Early Season Browsing, Plant Appearance, and Phytochemistry on Patterns of Seed Fly Attack. *Evolutionary Ecology*, 19 (1): 79-101.
- Karban, R. 2011. The Ecology and Evolution of Induced Resistance Against Herbivores. *Functional Ecology*, 25 (2): 339-347.
- Karban, R., Agrawal, A.A. y Mangel, M. 1997. The Benefits of Induced Defenses Against Herbivores. *Ecology*, 78 (5): 1351–1355.
- Karban, R. y Myers, J. 1989. Induced Plant Responses to Herbivory. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 20: 331–348.

- Kogan, M. y Goeden, R.D. 1971. Feeding and Host-selection Behavior of *Lema trilineata daturaphila* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 64(6): 1435-1448.
- Marquis, R.J. 1992. The Selective Impact of Herbivory. En: *Plant Resistance to Herbivory and Pathogens. Ecology, Evolution and Genetics* (R. S. Fritz y E. L. Simms, eds), pp. 301–325. The University of Chicago Press, Chicago.
- Mauricio, R. 1998. Costs of Resistance to Natural Enemies in Field Populations of the Annual Plant *Arabidopsis thaliana*. *The American Naturalist*, 151 (1): 20–8.
- Mauricio, R. y Rausher, M. 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.
- Moles, A., Bonser, S., Poore, A., Wallis, I. y Foley, W. 2011. Assessing the Evidence for Latitudinal Gradients in Plant Defence and Herbivory. *Functional Ecology*, 25: 380-388.
- Núñez-Farfán, J. y 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. y Valverde, P.L. 2007. The Evolution of Resistance and Tolerance to Herbivores. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 38 (1): 541–566.

- Pagán, I., Betancourt, M., de Miguel, J., Piñero, D., Fraile, A. y García-Arenal, F. 2010. Genomic and Biological Characterization of Chiltepín Yellow Mosaic Virus, A New Tymovirus Infecting *Capsicum annuum* var. *aviculare* in Mexico. *Archives of Virology*, 155 (5): 675–84.
- Poelman, E.H., Van Loon, J.J.A., Van Dam, N.M., Vet, L.E.M. y Dicke, M. 2010. Herbivore-Induced Plant Responses in *Brassica oleracea* Prevail Over Effects of Constitutive Resistance and Result in Enhanced Herbivore Attack. *Ecological Entomology*, 35 (2): 240–247.
- Quintana-Rodríguez, E., Morales-Vargas, A.T., Molina-Torres, J., Ádame-Alvarez, R.M., Acosta-Gallegos, J.A., Heil, M. 2014. Plant Volatiles Cause Direct, Induced and Associational Resistance in Common Bean to the Fungal Pathogen *Colletotrichum lindemuthianum*. *Journal of Ecology*, 103 (1): 250-260.
- Rostás, M., Bennett, R. y Hilke, M. 2002. Comparative Physiological Responses in Chinese Cabbage Induced by Herbivory and Fungal Infection. *Journal of Chemical Ecology*, 28 (12): 2449–63.
- Roy BA, Stanton ML, Eppley SM. 1999. Effects of Environmental Stress on Leaf Hair Density and Consequences for Selection. *J. Evol. Biol.*, 12:1089–1103.
- Schneider, D.S. y Ayres, J.S. 2008. Two Ways to Survive Infection: What Resistance and Tolerance can Teach us About Treating Infectious Diseases. *Nat. Rev. Immunol.*, 8: 889-895

- Simonsen, A.K. y Stinchcombe, J.R. 2007. Induced Responses in *Ipomoea hederacea*: Simulated Mammalian Herbivory Induces Resistance and Susceptibility to Insect Herbivores. *Arthropod-Plant Interactions*, 1 (2): 129–136.
- Sokal, R.R. & Rohlf, F.J. 1995. *Biometry*, 3rd edn W.H. Freeman and Co., New York.
- Stinchcombe, J.R. 2002. Can Tolerance Traits Impose Selection on Herbivores? *Evolutionary Ecology*, 16: 595–602.
- Strauss, S. y Agrawal, A.A. 1999. The Ecology and Evolution of Plant Tolerance to Herbivory. *Trends in Ecology & Evolution*, 14 (5): 179–185.
- Tian, D., Tooker, J., Peiffer, M., Chung, S., Felton, G. 2012. Role of Trichomes in Defense Against Herbivores: Comparison of Herbivore Response to Woolly and Hairless Trichome Mutants in Tomato (*Solanum lycopersicum*). *Planta*, 236 (4): 1053-1066.
- Tiffin, P. 2000. Mechanisms of Tolerance to Herbivore Damage: What Do We Know?. *Evolutionary Ecology*, 14: 523-536.
- Vergés, A., Pérez, M., Alcoverro, T. y Romero, J. 2008. Compensation and Resistance to Herbivory in Seagrasses: Induced Responses to Simulated Consumption by Fish. *Oecologia*, 155 (4): 751–60.
- Valverde, P.L., Fornoni, J. y Núñez-Farfán, J. 2001. Defensive Role of Leaf Trichomes in Resistance to Herbivorous Insects in *Datura stramonium*. *J. Evol. Biol.*, 14: 424-432.