

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS



**MECANISMOS Y LÍMITES DE LA TOLERANCIA AL DAÑO FOLIAR DEL CHILE
SILVESTRE *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*: Solanaceae**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
BIÓLOGO
PRESENTA

ERIK OMAR DÍAZ VALENZUELA

Ensenada, B.C.

Agosto de 2015

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS

MECANISMOS Y LÍMITES DE LA TOLERANCIA AL DAÑO FOLIAR DEL CHILE
SILVESTRE *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*: Solanaceae

T E S I S PROFESIONAL

QUE PRESENTA

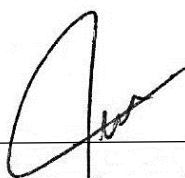
ERIK OMAR DIAZ VALENZUELA

APROBADO POR:



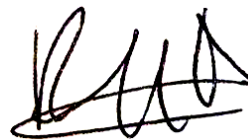
DR. RAFAEL BELLO BEDOY

Presidente del Jurado



DR. JOSÉ DELGADILLO RODRÍGUEZ

SECRETARIO



DR. RODRIGO MÉNDEZ ALONZO

1ER. VOCAL

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer al Dr. Rafael Bello Bedoy, mi profesor de botánica y director de tesis. Siendo su alumno aprendí muchas cosas que no están en los libros; aprendí la importancia de generar preguntas concretas y como responderlas, a realizar trabajo de calidad y a defender mis ideas. El Dr. Bello fue muy paciente conmigo mientras fui su tesista y alumno. Me apoyo económicamente para irme al congreso universitario de biología y además en todo lo que necesité durante la realización de mi tesis (aunque no lo visitaba mucho).

Agradezco a PROMEP por el financiamiento de beca para desarrollar mi tesis de licenciatura. Esta investigación fue llevada a cabo empleando equipo obtenido por medio del financiamiento de infraestructura otorgado al Dr. Rafael Bello Bedoy (INFRA_223639).

Agradezco a todos los compañeros biólogos (no los voy a nombrar porque son muchos) que alguna vez me ayudaron a medir variables de plantas de chile a cambio de una soda, un burrito o las gracias. Ellos soportaron media hora de explicaciones de mi proyecto en cada sesión de toma de datos y aguantaron como buenos biólogos el calor de la cámara de crecimiento. Agradezco a mi familia y amigos porque siempre me preguntaban ¿Ya terminaste la tesis?, sé que fue una buena manera de motivarme a terminarla. Especialmente agradezco a los amigos que se dieron el tiempo de leer y comentar mis escritos a media noche (mi hora de inspiración).

Finalmente agradezco a mis padres, pues ellos me apoyaron en todos los sentidos durante el tiempo que realicé mi tesis y durante toda mi carrera; nunca me faltó nada y sé que se interesaban genuinamente en mis proyectos.

Resumen de la tesis de Erik Omar Díaz Valenzuela presentado como requisito parcial para la obtención de la Licenciatura en Biología. Universidad Autónoma de Baja California, Ensenada, Baja California, México.

MECANISMOS Y LÍMITES DE LA TOLERANCIA AL DAÑO FOLIAR
DEL CHILE SILVESTRE *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*: Solanaceae

Resumen aprobado:

Dr. Rafael Bello Bedoy

La tolerancia a la herbivoría es una estrategia de defensa plástica de las plantas que es inducida por los herbívoros. Ésta permite reducir los costos del daño impuesto por herbívoros y amortiguar el fitness (*e.g.*, número de semillas fértiles). Los mecanismos de tolerancia más importantes son: incrementos en tasa relativa de crecimiento (TRC), incrementos en concentración de clorofila (ICC), y sobre-compensación de tejido. La importancia del estudio de la tolerancia recae en que los genotipos tolerantes tienen un mejor desempeño en las cosechas (tamaño y calidad de frutos) a pesar de enfrentarse plagas. Este estudio evaluó algunos mecanismos de tolerancia así como los límites de daño foliar en los que se expresan. En un experimento se germinaron semillas del chile silvestre *Capsicum annuum* var. *glabriusculum* y se seleccionaron 40 plantas que fueron distribuidas en tres niveles de daño foliar (25%, 50% y 75%) y un grupo control, con 10 réplicas en cada uno. Durante 40 días se midió la altura del tallo y el área foliar, al día 45 se midió el contenido de clorofila. Se encontró que la TRC puede ser considerada como un mecanismo de tolerancia en el chile silvestre y que su límite es 25% de defoliación, pues se detectó que ese nivel de daño solo la reduce en un 18%. La forma de crecimiento (altura con respecto del tiempo) se vio alterada por efecto del daño foliar, sin embargo, las plantas del grupo de 25% de daño foliar fueron capaces de amortiguar tal efecto mediante incrementos en su tasa de crecimiento. El chile silvestre no tuvo una respuesta plástica de sobre-compensación de tejido foliar, se sugiere que este mecanismo involucra costos que no se pueden amortiguar. Se detectó al incremento en TF como mecanismo de tolerancia del chile silvestre, pues el grupo de 25% de daño foliar solo mostró una disminución de 12% en contenido de clorofila con respecto del grupo control, además, el grupo de 75% mostró un mayor contenido de clorofila que el grupo de 50%. Los resultados sugieren que el límite de tolerancia a la herbivoría en el chile silvestre posiblemente es mayor a 25% de defoliación, sin embargo se podría considerar que la tolerancia no es el único mecanismo defensivo contra los herbívoros en el chile silvestre, pues se ha demostrado el papel de componentes de la resistencia (tricomas) en la defensa del mismo, en dado caso, en lugar de implicar costos posteriores al ataque, se invierte en prevenirlos o disminuirlos.

ÍNDICE

	PÁGINA
AGRADECIMIENTOS	II
RESUMEN	III
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Tolerancia como respuesta plástica y su variación en el crecimiento	5
1.2 Mecanismos de tolerancia	6
2. ANTECEDENTES	9
2.1 Estudios sobre el chile silvestre (<i>C. annuum</i> var. <i>glabriusculum</i>)	11
3. OBJETIVOS	14
4. METODOLOGÍA	15
4.1 Especie de estudio	15
4.2 Germinación y trasplante de plántulas	15
4.3 Diseño experimental	16
4.4 Estimación del área foliar	16
4.5 Aplicación de daño foliar	18
4.6 Medición de variables de respuesta	19
4.6.1 Altura	19
4.6.2 Área foliar	19
4.6.3 Contenido de clorofila	19
4.6.4 Tasa relativa de crecimiento (TRC)	20
4.7 Análisis estadísticos	20
5. RESULTADOS	22
5.1 Predicción de área foliar	22
5.2 Efecto de la defoliación sobre la tasa relativa de crecimiento (TRC)	23
5.3 Efecto de la defoliación sobre el crecimiento	25
5.4 Efecto de la defoliación sobre el área foliar	27
5.5 Efecto de la defoliación sobre el contenido de clorofila	29
5.6 Efecto de la defoliación sobre la arquitectura del chile silvestre	31
6. DISCUSIÓN	32
6.1 Efecto de la defoliación sobre la tasa relativa de crecimiento (TRC)	32
6.2 Efecto de la defoliación sobre el crecimiento	34
6.3 Efecto de la defoliación sobre el área foliar	35
6.4 Efecto de la defoliación sobre el contenido de clorofila	36
6.5 Efecto de la defoliación sobre la arquitectura del chile silvestre	38
7. CONCLUSIONES	39
8. LITERATURA CITADA	40

LISTA DE FIGURAS

FIGURA	DESCRIPCIÓN	PÁGINA
1	Representación gráfica hipotética de la tolerancia a la herbivoría. El eje X muestra la cantidad de daño impuesto por herbívoros, el eje Y el fitness del genotipo y las pendientes muestran la relación negativa entre ambas variables. Al comparar las pendientes que representan dos genotipos es notable que la pendiente del genotipo azul es menos negativa que la del amarillo. Un valor más negativo de la pendiente indica menor tolerancia.	3
2	Esquema explicativo del método para estimar el área foliar y aplicar el daño artificial. Con el vernier electrónico se mide la longitud del eje mayor de las hojas del chile silvestre, este valor se sustituye por “ x ” en la ecuación y se obtiene el área de hoja. Posteriormente se hacen los cálculos necesarios y se perforan las hojas.	18
3	Gráfica del modelo de regresión cuadrática de la forma $Y = \beta_0 + \beta_1X + \beta_2X^2$: β_0 , β_1 y β_2 tienen valores de -117.4, 3.867 y 0.4176 respectivamente. Este modelo permite estimar el área foliar de hojas de <i>C. annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> con medidas de longitud del eje mayor (largo foliar) de las hojas.	22
4	Tasa relativa de crecimiento (TRC) de las plantas de <i>C. annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> bajo el efecto de tratamientos de daño mecánico foliar. Las barras muestran las medias de 10 réplicas por tratamiento y el error estándar de la media. Los tratamientos que no poseen la misma letra son estadísticamente diferentes.	24
5	Curvas de crecimiento de plantas de <i>C. annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> durante 40 días bajo el efecto de tratamientos de daño mecánico artificial (control, 25%, 50% y 75%). Los símbolos muestran las medias y las barras el error estándar de la media de 10 réplicas.	26
6	Curvas de área foliar relativa de las plantas de <i>C. annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> durante 40 días (1, 20 y 40 del experimento) bajo tratamientos de daño mecánico (control, 25%, 50% y 75%). Se muestran las medias y error estándar de la media de 10 réplicas.	28
7	Índice de contenido de clorofila de plantas de <i>C. annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> bajo el efecto de tratamientos de daño mecánico foliar (control, 25%, 50% Y 75%). Las barras muestran las medias de 10 réplicas por tratamiento y el error estándar de la media. Los tratamientos que no poseen la misma letra son estadísticamente diferentes.	30
8	Regresión lineal múltiple (ANCOVA) de los valores de altura y área foliar de 40 individuos de <i>C. annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> . Los valores fueron transformados a logaritmo natural (ln). Las pendientes no difirieron significativamente, por tanto el efecto del tratamiento de daño foliar no influyó en la relación altura-área.	31

LISTA DE TABLAS

TABLA	DESCRIPCIÓN	PÁGINA
I	ANOVA para la regresión cuadrática del área foliar de las hojas de <i>C. annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> contra la longitud del eje mayor de estas.	23
II	ANOVA de un factor para la tasa relativa de crecimiento (TRC) de 40 plantas de <i>C. annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> distribuidas en cuatro tratamientos de daño foliar.	24
III	ANOVA de dos factores con medidas repetidas para analizar el crecimiento de las plantas de <i>C. annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> . Se registra la significancia de los efectos Tratamiento de daño foliar, Tiempo (efecto fijo) y Tiempo x Tratamiento.	26
IV	ANOVA de dos factores con medidas repetidas para analizar el desarrollo foliar de las plantas de <i>C. annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> . Se registra la significancia de los efectos Tratamiento de daño foliar, Tiempo (efecto fijo) y Tiempo x Tratamiento.	28
V	ANOVA de un factor para el índice de contenido de clorofila de 40 plantas de chile silvestre (<i>C. annuum</i> var. <i>glabriusculum</i>) distribuidas en cuatro tratamientos de daño foliar.	30
VI	Tabla de ANCOVA para evaluar los efectos de los tratamientos de daño foliar sobre la arquitectura de <i>C. annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> .	31

1. INTRODUCCIÓN

Las interacciones entre plantas y herbívoros son de las más importantes en la naturaleza puesto que constituyen aproximadamente tres cuartas partes de la biodiversidad y biomasa macroscópica de la tierra (Johnson, 2011). La *herbivoría* es una interacción biótica que consiste en el consumo de tejidos vegetales vivos por animales (Crawley, 1983), y destaca de entre muchas interacciones porque los herbívoros consumen más del 15% de la biomasa vegetal producida anualmente, lo que coloca a ésta, como una de las más significativas en la conducción de energía a través las redes alimenticias (Agrawal, 2011).

El daño causado por los insectos herbívoros altera el crecimiento y la reproducción de las plantas por medio del consumo de diferentes tejidos como las raíces, hojas, tallos y estructuras florales (Escarré *et al.*, 1996). Como consecuencia del daño por insectos herbívoros, las plantas experimentan una disminución en su vigor (*i. e.*, la capacidad que tiene una planta de de crecer más rápido o en última instancia alcanzar un tamaño más grande en relación a la media poblacional) (Price, 1991), productividad, desempeño y en diferentes componentes de su adecuación biológica (*i. e. fitness*) (Strauss y Agrawal, 1999). El efecto del daño por herbívoros en el fitness de las plantas, los convierte en agentes de selección natural que promueven la evolución de estructuras y estrategias para defenderse y prevenir o reducir el daño.

Debido a la presión selectiva que los insectos herbívoros ejercen sobre las plantas, éstas han evolucionado un arsenal de características defensivas que se engloban en dos estrategias generales: *resistencia* y *tolerancia* (Ehrlich y Raven 1964).

La resistencia es una respuesta constitutiva o inducida que evita o reduce la cantidad de daño que los herbívoros y patógenos ejercen sobre una planta, esta les confiere a las plantas la capacidad de maximizar la sobrevivencia, el crecimiento y la reproducción (*i.e.*, fitness: Nuñez-Farfán *et al.*, 2007). Algunos componentes importantes de la resistencia son: tricomas, vesículas de látex, la cantidad de lignina en las hojas, y los metabolitos secundarios (*e. g.* taninos y terpenoides) (Strauss y Agrawal 1999; Nuñez-Farfán *et al.*, 2007; Carmona *et al.*, 2011). La tolerancia a la herbivoría es una respuesta inducida por el ataque del herbívoro que amortigua y reduce los efectos negativos en componentes del fitness de las plantas (Strauss y Agrawal 1999; Stowe *et al.*, 2000; Nuñez-Farfán *et al.*, 2007; Carmona *et al.*, 2011). La tolerancia a los herbívoros, a diferencia de la resistencia se expresa exclusivamente cuando el herbívoro está presente, sin embargo, la tolerancia no evita el daño, solamente minimiza el costo del ataque sobre el fitness, por ello se ha propuesto que la tolerancia favorece en mayor medida que la resistencia a la maximización del fitness, pues la primera representa menos costos energéticos que la segunda (Nuñez-Farfán *et al.*, 2007; Kariñho-Betancourt y Nuñez-Farfán 2015). Además, la estrategia de tolerancia, a diferencia de la de resistencia, no impone presión selectiva sobre los herbívoros ni produce coevolución, ya que no ejerce efectos negativos sobre su desarrollo ni sobre su desempeño (Stinchcombe, 2002; Garrido-Espinoza y Fornoni, 2006).

La tolerancia es definida también, como la pendiente resultante de la asociación entre el fitness y el daño recibido para un grupo de plantas genéticamente relacionadas (Strauss y Agrawal, 1999) (Figura 1).

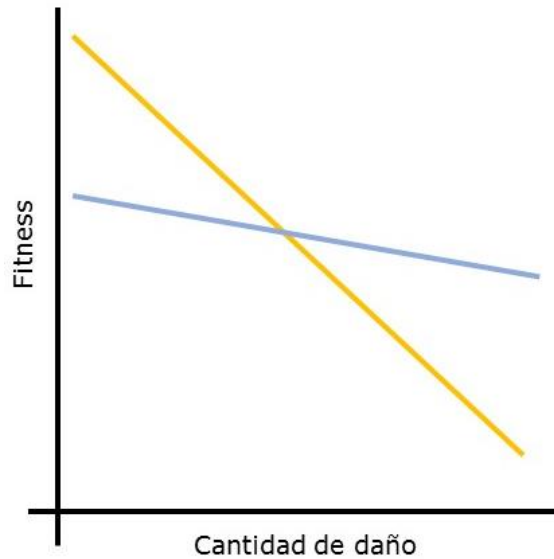


Figura 1. Representación gráfica hipotética de la tolerancia a la herbivoría. El eje X muestra la cantidad de daño impuesto por herbívoros, el eje Y el fitness del genotipo y las pendientes muestran la relación negativa entre ambas variables. Al comparar las pendientes que representan dos genotipos es notable que la pendiente del genotipo azul es menos negativa que la del amarillo. Un valor más negativo de la pendiente indica menor tolerancia.

La tolerancia al daño por herbívoros se puede estimar comparando la cantidad de frutos y semillas que un grupo de plantas dañadas produce, contra las que produce un grupo de plantas no dañadas del mismo genotipo (Strauss y Agrawal, 1999; Tiffin, 2000). Algunos mecanismos de tolerancia a los herbívoros son: incrementos en la tasa relativa de crecimiento (TRC), cambios fenológicos, activación de meristemos latentes, cambios en la arquitectura (*e. g.*, tipo de ramificación y dominancia apical), utilización de recursos almacenados, producción de área foliar e incrementos en la tasa fotosintética (Strauss y Agrawal 1999; Stowe *et al.*, 2000; Tiffin, 2000; Nuñez-Farfán *et al.*, 2007; Bello-Bedoy y Nuñez-Farfán, 2010; Carmona *et al.*, 2011).

Se ha propuesto que las estrategias defensivas inducidas como la tolerancia son menos costosas para el fitness de las plantas que las constitutivas como la resistencia, esto es debido a que cuando los herbívoros no están presentes, las plantas pueden invertir recursos para su crecimiento y reproducción más que para defenderse, maximizando así su fitness (Karban y Myers, 1989; Strauss y Agrawal, 1999; Nuñez-Farfán *et al.*, 2007; Karban, 2011). En cambio, si los herbívoros están presentes, las plantas incrementan la inversión de recursos hacia las defensas y tienen decrementos en su crecimiento y reproducción (Strauss y Agrawal, 1999; Stinchcombe, 2002; Nuñez-Farfán *et al.*, 2007; Karban, 2011; Hoke y Ávila-Sakar, 2015).

Se ha discutido acerca de cuál estrategia defensiva (resistencia o tolerancia) tiene un papel preponderante en la maximización del fitness de las plantas (Nuñez-Farfán *et al.*, 2007; Kariñho-Betancourt y Nuñez-Farfán 2015). Por una parte, se plantea que la selección natural no actúa en favor de la estrategia tolerancia si utilizando la de resistencia no se observan disminuciones en los componentes del fitness y viceversa (Nuñez-Farfán *et al.*, 2007; Kariñho-Betancourt y Nuñez-Farfán 2015). No obstante, Fornoni (2011) comenta que la selección de la estrategia de tolerancia es más fuerte en especies o poblaciones que tienen en su historia natural registros de herbivoría, puesto que los rasgos asociados a dicha estrategia son heredables. Sin embargo, se ha expuesto la idea de que las poblaciones vegetales mantienen niveles balanceados entre ambas estrategias defensivas para mantener un fitness alto y que por tanto, la selección de una u otra estrategia está mediada por la presencia de los herbívoros (Strauss y Agrawal 1999; Nuñez-Farfán *et al.*, 2007; Hoke y Ávila-Sakar, 2015). Asimismo se sugiere la posibilidad de una estrategia

mixta que involucra complementariedad de estrategias defensivas, y el papel de esta en la maximización del fitness de poblaciones vegetales (Carmona y Fornoni, 2013).

1.1 Tolerancia como respuesta plástica y su variación en el crecimiento

La *plasticidad fenotípica* se define como la capacidad de un organismo de expresar diferentes atributos o respuestas dependiendo del ambiente en el que se encuentre durante su ciclo de vida (*e. g.* daño foliar por herbívoros), la respuesta plástica incluye cambios en la química, fisiología, desarrollo, morfología y comportamiento en respuesta a una señal ambiental (Agrawal, 2001). La tolerancia como una respuesta plástica involucra mecanismos como incrementos en tasa fotosintética, en tasa de crecimiento y en la adquisición de nutrientes, mismos que modifican la asignación de recursos para maximizar el fitness del individuo a pesar de haber sido atacado; sin embargo, no siempre se asegura dicha maximización, pues existen factores abióticos que determinan el grado de la respuesta plástica (Heil, 2010). La tolerancia como respuesta plástica puede presentar modelos lineales o polinomiales, esto se debe a los múltiples factores ambientales que simultáneamente alteran la dimensionalidad de la misma, siendo así el fitness, la pendiente de la recta o en su caso el área bajo la curva (Simms, 2000).

Se ha encontrado, en algunos grupos de plantas, que durante las distintas fases de su desarrollo (*i. e.* cotiledón, juvenil y adulto) se exhiben diferentes niveles de tolerancia a la herbivoría, originados estos, por la reasignación de recursos hacia diferentes funciones como producción de biomasa (área foliar) y cambios en la arquitectura (*i.e.*, organización tridimensional del cuerpo de la planta: Reinhardt y Kuhlemeier, 2002) (Lehtilä y Strauss,

1999). Por ejemplo, se hay estudios donde se aplicó daño artificial tanto a plantas herbáceas como a leñosas, y se encontró que en etapas tempranas del crecimiento se muestran los niveles más altos de tolerancia, que el estadio juvenil es el más vulnerable (menos tolerante a la herbivoría) y que en la edad reproductiva o adulta se restablece la tolerancia como un intento para asegurar el éxito reproductivo (Boege y Marquis, 2005). Por otra parte, se sugiere que en algunas familias botánicas la tolerancia a la herbivoría se ve maximizada únicamente en la edad reproductiva (Tucker y Ávila-Sakar, 2010). Se ha planteado que los cambios en niveles de tolerancia durante el desarrollo de las plantas influyen tanto a la manera en que estas adquieren recursos para crecer y reproducirse, como al valor de adecuación de los rasgos asociados a las defensas (Tucker y Ávila-Sakar, 2010). Así pues, se esperaría que el grado en el cual un tejido u órgano particular debería ser defendido varíe durante el desarrollo de los individuos.

1.2 Mecanismos de tolerancia

Entre los mecanismos de tolerancia más estudiados se encuentran: el crecimiento compensatorio, cambios en tasa fotosintética y cambios en la arquitectura (Strauss y Agrawal 1999; Stowe *et al.*, 2000; Tiffin, 2000; Nuñez-Farfán *et al.*, 2007; Heil, 2010).

Incrementar la tasa relativa de crecimiento, ya sea de la estatura de la planta o de su área foliar, es un mecanismo de tolerancia vinculado al crecimiento compensatorio, este le permite a las plantas, incrementar o mantener una tasa de crecimiento tras haber sufrido defoliación y de esta manera, amortiguar los efectos que se pudiesen presentar sobre su vigor y/o su fitness (Strauss y Agrawal 1999; Stowe *et al.*, 2000; Tiffin, 2000; Nuñez-Farfán *et al.*, 2007; Carmona *et al.*, 2011; Camargo *et al.*, 2015).

La respuesta compensatoria de crecimiento está asociada principalmente tres grupos de hormonas (auxinas, giberelinas y ácido abscísico) que regulan el crecimiento intermodal, la dominancia apical y el desarrollo foliar, pues se ha demostrado que la defoliación apical altera su ubicación en tejidos, biosíntesis y transporte (Taiz y Zeiger, 2010). Por ejemplo, un estudio en la planta *Solanum carolinense* L. (Solanaceae) demostró que tras el daño impuesto por herbívoros se observa una producción diferencial en las hormonas ácido jasmónico, ácido salicílico y ácido abscísico, sugiriendo que estas tienen un papel importante en la regulación del crecimiento y el sistema defensivo de dicha especie (Campbell *et al.*, 2014).

Entre los mecanismos de tolerancia más importantes relacionados con la actividad fotosintética está la disminución en el contenido de clorofila, esta se debe, a que en lugar de asignar recursos hacia su síntesis, se reasignan recursos energéticos y estructurales como carbono y nitrógeno hacia el crecimiento de tejidos no dañados (Salgado-Luarte y Gianoli, 2011; Barton, 2013; Korpita *et al.*, 2013), pues la síntesis de la clorofila implica al menos doce pasos que involucran inversión energética en la producción de precursores (*e. g.*, tetrapirroles), de enzimas y de cofactores (Taiz y Zeiger, 2010).

Los cambios en la arquitectura de las plantas, como mecanismo de tolerancia se asocian a la distribución de tejidos y maquinarias (Strauss y Agrawal 1999; Stowe *et al.*, 2000; Tiffin, 2000). Se mencionan dentro de este mecanismo, los cambios en la relación raíz-vástago que, donde al incrementar el tejido radicular se intensifica la habilidad de adquirir nutrientes para el crecimiento compensatorio o para el desarrollo de frutos. Asimismo se menciona el incremento de la proporción de área fotosintética en frutos y tallos,

mediante esta estrategia se reduce la dependencia de fotosintatos producidos en hojas dañadas por insectos folívoros (Tiffin, 2000).

La tolerancia al daño por herbívoros cumple un papel sumamente importante en la dinámica ecológica y evolutiva entre plantas y herbívoros, lo cual la ha colocado como un importante objeto de estudio en años recientes, sin embargo, mucha de esa investigación se ha enfocado en conocer las presiones selectivas de tolerancia más que en los mecanismos de la misma (Tiffin, 2000; Baucom y de Roode, 2011; Barton, 2013; Korpita *et al.*, 2013). Además, se sabe que la herbivoría, además de influir sobre la evolución de las plantas, como incrementar los niveles de metabolitos secundarios implicados en la defensa (Erlich y Raven, 1964), entre otros aspectos, también tiene una repercusión en el entorno social y económico del humano. Por ejemplo, se ha registrado que como consecuencia de esta interacción, se presentan pérdidas económicas de millones de dólares anualmente en los sectores agrícola y forestal (Oerke y Dehne, 2004). Ante la disyuntiva presentada en este contexto ecológico-evolutivo y económico-social, conocer los mecanismos de tolerancia a la herbivoría y sus límites, así como la identificación de los genes asociados a los mismos, permitirá desarrollar herramientas útiles en el sector agrícola (e. g. control de plagas y mejoramiento genético) (Dicke y Hilker, 2003).

Éste estudio examina la ocurrencia de diferentes mecanismos de tolerancia en el chile silvestre (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*, así como sus límites mediante la aplicación de cuatro niveles de daño.

2. ANTECEDENTES

La idea de que las plantas pueden tolerar estrés biótico y ambiental además de daño físico ha sido ampliamente aceptada (Strauss y Agrawal, 1999; Nuñez-Farfán *et al.*, 2007; Baucom y de Roode, 2011). A mitad del siglo XX los agrónomos comenzaron el estudio de la tolerancia a la herbivoría porque notaron que algunos de sus cultivos mantenían altos rendimientos incluso cuando eran atacados por plagas de insectos o eran forrajeados por el ganado (ver Fornoni, 2011 para una revisión). Como consecuencia de observaciones de dicha índole se comenzaron a estudiar las características fisiológicas y ecológicas de las plantas, así como los mecanismos que incrementan la tolerancia a la herbivoría, pues la selección artificial de razas tolerantes al daño por herbívoros fue un importante impulso a la agronomía en aquellos años (Strauss y Agrawal, 1999; Tiffin, 2000; Fornoni *et al.*, 2003).

Según una revisión de Fornoni (2011) la herbivoría por parte de insectos y mamíferos en la parte apical de las plantas tiene una respuesta semejante. Sin embargo comenta que la respuesta al daño de órganos específicos como las hojas o raíces es una caja negra aún ya que la remoción completa de tejido fotosintético que producen los mamíferos tiene una respuesta diferente a la perforación que hacen los insectos. Se ha propuesto que el daño artificial y el natural (por insectos herbívoros) no muestran una diferencia significativa en la respuesta defensiva por parte de las plantas (Hochwender *et al.*, 2005; Utsumi y Ohgushi, 2008) pero en 2010, Kessler y Heil sugirieron que eso varía entre especies, ya que en su experimento la simulación del daño tuvo una respuesta diferente al daño impuesto por enemigos naturales.

La respuesta defensiva al daño por insectos herbívoros mediante la estrategia de tolerancia está asociada a la expresión fenotípica de algunos rasgos que alteran la arquitectura de la planta, los patrones de asignación de recursos, la actividad fotosintética y los patrones fenológicos (Marquis, 1996; Strauss y Agrawal, 1999; Stowe *et al.*, 2000; Tiffin, 2000; Fornoni *et al.*, 2003).

Strauss y Agrawal (1999) refieren 17 estudios donde por medio de daño artificial se evidenció el papel de cambios en la tasa fotosintética y en la tasa de crecimiento como mecanismos de tolerancia a la herbivoría en especies como *Ipomea purpurea*, *Salix cordata* y *Lolium perene*. Asimismo, Rosenthal y Welter (1995) evaluaron las características asociadas a la tolerancia en diferentes especies de maíz (*Zea spp.*) y encontraron que si bien, la tasa de crecimiento no se mostró como un mecanismo de tolerancia de dicha especie, los cambios en la arquitectura de la planta sí influenciaron incrementos en su fitness.

Se ha estudiado la fluctuación que presentan los niveles de tolerancia durante el crecimiento de las plantas, por ejemplo, Boege y colaboradores (2007) encontraron que el rábano silvestre (*Raphanus sativus*) se muestra menos tolerante en estadios tempranos que en tardíos de su desarrollo y comentan que se debe a que la tolerancia es una estrategia que se expresa a una edad en la que ya se aseguró la sobrevivencia del individuo lo cual minimiza los costos reproductivos que puede implicar el daño por herbívoros en etapas adultas (Boege *et al.*, 2007).

En cuanto a los límites de la tolerancia a los herbívoros se sabe que en promedio, en comunidades naturales de plantas terrestres, éstas toleran daño foliar de hasta 18% (Strauss y Agrawal, 1999). Sin embargo, dentro y entre especies existe gran variación en la tolerancia a herbívoros, y en algunas especies se ha detectado tolerancia incluso a niveles mayor al 18%. Por ejemplo Lehtilä y Strauss (1999), encontraron que en el rábano silvestre (*Raphanus raphanistrum*) ni el 25% de pérdida de área foliar muestra efectos negativos sobre la producción de semillas y por tanto en su fitness. Sin embargo, en algunas especies como *Piper arieianum* solo el 10% de remoción de su área foliar era suficiente para reducir su fitness (Marquis, 1984).

2.1 Estudios sobre el chile silvestre (*C. annuum* var. *glabriusculum*)

El chile silvestre es una planta que posee alta importancia cultural y económica en México pues se tienen registros de cientos de años donde éste era incluido en la cocina y como planta medicinal en comunidades indígenas (Rodríguez-Maturino *et al.*, 2015). A pesar de que no existen cultivos masivos del chile silvestre, sus frutos se cosechan en regiones subtropicales de Chihuahua y Sonora siendo el rendimiento aproximadamente de 50 toneladas año⁻¹, lo cual deja una derrama económica de millones de pesos (Hernández-Verdugo *et al.*, 2001; Pagán *et al.*, 2010; González-Jara *et al.*, 2011; Villalón-Mendoza *et al.*, 2013). Por ello, al poseer el chile tal importancia cultural y económica para las comunidades rurales y urbanas de regiones norteañas, el conocimiento generado en estudios como este, permitirá emplear mejores medidas para su aprovechamiento.

El chile silvestre posee alta importancia biológica, pues la evidencia sugiere que es el ancestro común de todas las variedades domesticadas de Chile (Pickersgill, 1971). Por lo cual se considera como reservorio de variación genética que puede tener amplio valor en su conservación y uso en biotecnológico (Pagán *et al.*, 2010), por ejemplo; detectar los genes relevantes en la defensa contra herbívoros que ya están ausentes en las plantas cultivadas debido a la domesticación. Sin embargo, tampoco se ha presentado mucha atención a estudiar la ecología evolutiva de la defensa contra organismos.

Se han realizado algunos estudios importantes sobre el Chile silvestre (*C. annuum* var. *glabriusculum*), éstos han evaluado la fisiología de la germinación, capacidad antifúngica, variabilidad genética, biogeografía y recursos genéticos (Hernández-Verdugo *et al.*, 2001; Votava *et al.*, 2002; Kraft *et al.* 2013; Villalón-Mendoza *et al.*, 2013). Sin embargo son pocos los estudios que se han realizado para conocer su ecología evolutiva y las interacciones que presenta con otros organismos como aves y roedores (Tewksbury *et al.*, 1999; Tewksbury *et al.*, 2008; Pagan *et al.*, 2010; Dipp 2015). Por ejemplo, en los trabajos de Tewksbury y colaboradores (1998 y 2008) se encontró que la distribución espacial del Chile silvestre está asociado a plantas nodriza como el cardón y el mezquite y que la dispersión es exclusivamente por aves, además se sugirió el papel de la capsaicina en la defensa contra infecciones fúngicas.

Recientemente, se reportó la ocurrencia de dos poblaciones de plantas de *C. annuum* var. *glabriusculum* que crecen en condiciones ambientales similares, una con un nivel de daño promedio de más de 12% y otra de 5%, pero ambas con una producción de semillas por fruto similar (Dipp 2015). En la población con menos daño se encontró que las plantas

producen más tricomas, componente de resistencia en plantas, mientras que en población con mayor daño el número de tricomas es menor. Esto por un lado sugiere que en una población se emplea a la resistencia como estrategia de defensa para maximizar el número de semillas (menos daño, más tricomas), y en la que el daño es superior, para producir un nivel igual de semillas se emplea la tolerancia. Sin embargo, es necesario llevar a cabo estudios que nos permitan caracterizar los componentes de la tolerancia y sus límites, para comenzar a entender la ecología evolutiva de la defensa de esta planta.

La concentración de capsaicina en los frutos del chile silvestre desempeña un papel defensivo que repele el daño por mamíferos y hongos que atacan los frutos (Tewksbury *et al.*, 1999; Tewksbury *et al.*, 2008; Rodríguez-Maturino *et al.*, 2015), no así es el caso para virus o insectos herbívoros, pues se ha demostrado que insectos del género *Helicoverpa* (Lepidoptera: Noctuidae) son capaces de consumir los frutos de la especie *C. annuum* y otras plantas de la familia Solanaceae, pues se especializan en este grupo taxonómico (Ahn *et al.*, 2011).

Se desconoce aún que especies de herbívoros consumen el tejido foliar de *C. annuum* var. *glabriusculum*. En poblaciones de chile silvestre de Sierra La Laguna en B. C. S. y de la sierra de Los Álamos, SON. se han observado a escarabajos tortuga y del género *Epitrix* (Coleóptera: Chrysomelidae), respectivamente, consumiendo hojas del chile silvestre (Bello-Bedoy, Comentario Personal). Sin embargo, no se ha realizado un estudio sistemático para determinar la entomofauna que cause el daño foliar que se ha reportado previamente en esas poblaciones (Dipp 2015). Esto es importante porque la reproducción

del chile silvestre depende estrictamente de las semillas, y es importante conocer qué especies de insectos atacan a las plantas (*e. g.*, generalistas vs especialistas) para predecir si se emplea la resistencia y la tolerancia en sus poblaciones para mantener su producción de semillas.

3. OBJETIVOS

- Obtener un modelo matemático que permita determinar el área foliar de las plantas de (*C. annuum* var. *glabriusculum*) para poder controlar y evaluar el efecto de los niveles de daño (artificial).
- Conocer algunos de los mecanismos de tolerancia a la defoliación de (*C. annuum* var. *glabriusculum*) y establecer sus límites mediante comparaciones de plantas con diferentes niveles de daño foliar, esto utilizando las siguientes variables de respuesta: tasa de crecimiento relativa, altura total, área foliar y concentración de clorofila.
- Establecer la variación que tienen algunas características asociadas a la tolerancia a la herbivoría en *C. annuum* var. *glabriusculum*, en un intervalo de tiempo de 40 días.

4. METODOLOGÍA

4.1 Especie de estudio

El chile silvestre *Capsicum annum* var. *glabriusculum* (Solaneaceae) es una planta perenne, sufrutescente (Delgadillo, 2014, comentario personal) y algunas veces trepadora, que se distribuye principalmente en el norte de México. Habita en lugares sombreados como arroyos y cañones donde predomina suelo aluvial o arcilloso, rico en nitrógeno y fósforo y, generalmente se asocia a plantas nodrizas como *Prosopis glandulosa*, *Celtis pallida* y algunas especies de cactus (Pachycereae) (González-Jara *et al.*, 2011; Kraft *et al.*, 2013). Sus hojas pueden crecer solitarias o en pares y se disponen de manera alterna, posee flores blancas solitarias con cinco anteras color verde-violeta y estigma corto, los frutos son globosos u ovoides, deciduos y rojos cuando están maduros (Araiza-Lizarde *et al.*, 2011; Villalón-Mendoza *et al.*, 2013). La planta alcanza su madurez reproductiva entre los seis y diez meses de edad, los frutos que produce son pequeños y picantes, y son dispersados por aves.

4.2 Germinación y trasplante de plántulas

Se colocaron aproximadamente 300 semillas del chile silvestre *C. annum* var. *glabriusculum* procedentes de poblaciones silvestres de Papantla Veracruz en almácigos de 40 pozos llenos con suelo comercial BM2 Berger. Cuando las plantas tenían al menos 2 hojas verdaderas bien desarrolladas, se trasplantaron a macetas de 750 cm³ llenas con el mismo tipo de suelo adicionado con fertilizante Miracle-Gro 1001233 All Purpose Plant Food®. Las plantas fueron irrigadas cada tres días hasta que alcanzaron la talla necesaria para comenzar el experimento.

4.3 Diseño experimental

Se eligió una submuestra de 40 plantas que presentaban cuatro hojas verdaderas. Para controlar la variación asociada con la diferencia entre estaturas, las plantas de diferente talla fueron distribuidas igualmente a los diferentes niveles de daño, de manera que hubiese plantas de todas las clases de estaturas en los diferentes tratamientos. Las plantas fueron sometidas un tratamiento de daño artificial de cuatro niveles que consistieron 25%, 50% y 75% de daño y plantas sin daño como un grupo control.

4.4 Estimación del área foliar

Para estimar el área foliar y mantener constantes los niveles de daño en cada tratamiento se realizó un método no invasivo. Para la estimación se ajustó un modelo matemático que permitiese predecir el área de una hoja de la especie de estudio a partir de mediciones de longitud de la hoja siguiendo su vena principal. Se colectó una muestra de 108 hojas de diferentes formas y tamaños colectadas de plantas de diferentes tamaños de *C. annuum* var. *glabriusculum* procedentes de la misma fuente de semillas. Las hojas se digitalizaron y se les midió la longitud de su vena central y el área de la lámina con el programa ImageJ 1.48v (NIH; disponible en: <http://imagej.nih.gov/ij/>) que considera una relación pixel-milímetro.

Para ajustar el modelo, la longitud de la hoja en la vena central fue considerada la variable independiente y el área total de la misma hoja como variable dependiente. En el programa GraphPad Prism 5.0 se ajustó un modelo cuadrático (ver sección de análisis estadísticos) para predecir el área de cada hoja.

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X + \beta_2 X^2$$

β_0 , β_1 y β_2 son constantes que tienen valores de -117.4 (intercepto de Y en $X = 0$), 3.867 (valor de Y en $X = 1$) y 0.4176 (constante que acompaña a X^2).

Para calcular el área de una hoja de la especie de estudio se midió la hoja en su vena central con un vernier electrónico Mitutoyo ($\pm 0.01\text{mm}$). Esta medida sustituyó a la variable independiente en el modelo y se interpoló el área.

Para el inicio del daño se estimó el área foliar de cada individuo sumando el área de las primeras cuatro hojas bien desarrolladas. En las estimaciones subsecuentes se consideraron las siguientes cuatro hojas desarrolladas. Ya que a pesar de que las hojas conservaron el daño, estas pudieron haber aumentado su área foliar y por ello se le consideró como una medida relativa del área foliar de cada individuo (planta).

4.5 Aplicación de daño mecánico foliar

Una vez estimada el área foliar de cada individuo se calculó el área a remover para controlar el nivel de daño. El área foliar de cada planta se multiplicó, según fuera el caso por 0.25, 0.50 o 0.75 para remover el 25%, 50% o 75% de su área foliar. Este método permite calcular el número de perforaciones y tamaño de área de sacabocado que debían aplicarse a cada planta. Se emplearon sacabocados de acero de diferentes áreas (12.5, 25, 50 o 90 mm²). Para mantener constantes los niveles de daño éste se aplicó cada vez que se tuviesen cuatro hojas nuevas, para ello se marcó con un alambre el pedúnculo de la hoja más apical que fue perforada (Figura 2).

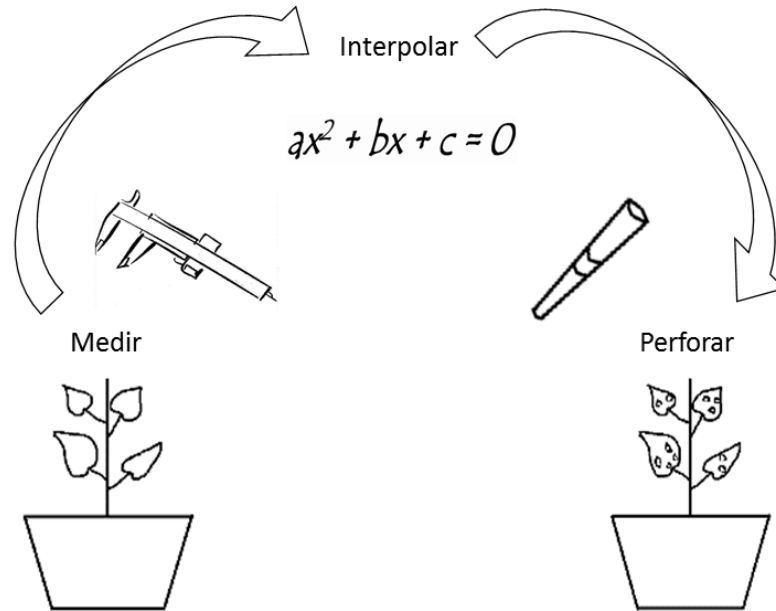


Figura 2. Esquema explicativo del método para estimar el área foliar y aplicar el daño artificial. Con el vernier electrónico se mide la longitud del eje mayor de las hojas del chile silvestre, este valor se sustituye por “x” en la ecuación y se obtiene el área de hoja. Posteriormente se hacen los cálculos necesarios y se perforan las hojas.

4.6 Medición de variables de respuesta

4.6.1 Altura

La altura de las plantas se midió con una regla de 30 cm (± 1 mm.). Se consideró la altura como la distancia comprendida desde el suelo hasta el ápice de la planta. Durante los primeros días de crecimiento de la planta a partir de que germinó, las mediciones se a intervalos de cinco días. A partir del día 20 se decidió tomarlas a intervalos de 10 días. Esto se decidió debido a que a intervalos de 5 días no se encontraron diferencias importantes en la altura o área foliar.

4.6.2 Área foliar

El área foliar de cada planta se estimó con la metodología descrita en la sección 4.4. Se consideraron para el análisis estadístico únicamente los datos de los días 1, 20 y 40 del experimento.

4.6.3 Contenido de clorofila

El contenido de clorofila fue estimado con un medidor de clorofila CCM-200 plus OptiSciences®. Este medidor de clorofila ofrece la ventaja de conseguir la medición requerida de manera no destructiva. El equipo CCM-200 plus OptiSciences® obtiene un índice de contenido de clorofila mediante el cociente de la transmitancia en dos longitudes de onda diferentes (653 nm para clorofila II y 931 nm para las clorofilas cercanas al infrarrojo) medidas en un área de 0.71 mm².

$$\text{ICC} = \% \text{ Transmitancia a } 931 \text{ nm.} / \text{ Transmitancia a } 653 \text{ nm.}$$

Esta medición se realizó al término del experimento (día 45), se realizó la medición a cuatro hojas de cada planta y se registró el promedio de estas.

4.6.4 Tasa relativa de crecimiento (TRC)

La tasa relativa de crecimiento (TRC) se obtuvo a partir de la medición de la altura de las plantas al inicio y al final del experimento. Ésta se calculó como:

$$\text{TRC} = (A_2 - A_1) / (T_2 - T_1)$$

Dónde: A_2 es la altura de la planta al tiempo dos y A_1 la altura de la planta en el tiempo uno. La diferencia de altura ($A_2 - A_1$) indica la magnitud del crecimiento de la planta, la diferencia del tiempo ($T_2 - T_1$) indica el tiempo transcurrido entre las mediciones de A_1 y A_2 . El cociente de ambas diferencias indica la cantidad de milímetros que la planta crece por día.

4.7 Análisis estadístico

Para la estimación del área foliar se ajustó un modelo de regresión polinomial de segundo orden (cuadrático) siendo la variable independiente el largo de la vena central de la hoja y la variable dependiente el área. Se seleccionó este modelo debido a que una regresión lineal explicaba solamente el 70% de la variación de los datos, a diferencia el cuadrático que explicó el 99%.

Para evaluar la viabilidad el modelo cuadrático se realizó una prueba *t*-student que contrastó los datos de área foliar obtenidos mediante el programa ImageJ 1.48v (valores reales) contra los interpolados mediante el modelo.

Para analizar el efecto de los tratamientos de daño mecánico sobre las variables tasa relativa de crecimiento (TRC) y concentración de clorofila se realizaron Análisis de Varianza de un factor (ANOVA) y análisis a posteriori (HSD, Tukey) que comparasen las medias de los tratamientos entre sí.

Para evaluar el efecto del daño foliar sobre el crecimiento, se realizaron análisis de Varianza de medidas repetidas para la altura de las plantas y para el área foliar. El modelo incluyó al daño y tiempo como factores fijos y su interacción daño \times tiempo.

Con los datos de área foliar y altura al día 40 del experimento se realizó un Análisis de Covarianza (ANCOVA), este evaluó si la altura (variable dependiente) de las plantas se ve alterada por el efecto que tiene el daño mecánico sobre el área foliar (variable independiente).

Todos los análisis fueron realizados con un $\alpha = 0.05$ y asumiendo normalidad de datos. Para graficar y realizar las pruebas de hipótesis se utilizaron los programas GraphPad Prism 5.0 y JMP Pro 10 respectivamente.

5. RESULTADOS

5.1 Predicción de área foliar

El modelo para la predecir el área de la lámina de la hoja de *C. annuum* var. *glabriusculum* con base en la longitud del eje mayor fue de tipo polinomial de segundo orden (cuadrático), fue significativo y explicó el 99% de la variación de los datos ($R^2 = 0.99$, $P < 0.0001$; $n = 108$; Figura 3).

Una comparación entre las medidas del área interpolada mediante el modelo y las obtenidas de las hojas del chile silvestre mediante un análisis digital, no mostró diferencias significativa ($t = 0.0008$, $P = 0.99$), indicando que no hay diferencias entre lo esperado predicho por el modelo, y lo observado en las mediciones de área.

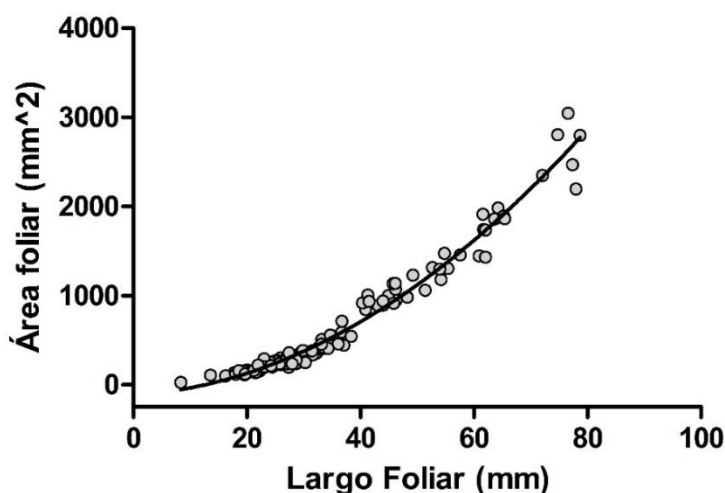


Figura 3. Gráfica del modelo de regresión cuadrática de la forma $Y = \beta_0 + \beta_1X + \beta_2X^2$: β_0, β_1 y β_2 tienen valores de -117.4, 3.867 y 0.4176 respectivamente. Este modelo permite estimar el área foliar de hojas de *C. annuum* var. *glabriusculum* con medidas de longitud del eje mayor (largo foliar) de las hojas.

Tabla I. ANOVA para la regresión cuadrática del área foliar de las hojas de *C. annuum* var. *glabriusculum* contra la longitud del eje mayor de estas.

Fuente de variación	<i>gl</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Modelo	2	49342888	24671444	2039.97	< 0.0001
Error	104	1257775	12093.99		
Total	106	50600663			

5.2 Efecto de la defoliación sobre la tasa relativa de crecimiento (RGR)

El análisis de varianza de un factor mostró que la diferencia en las tasas relativas de crecimiento de las plantas bajo los diferentes niveles de daño foliar estadísticamente significativa ($F = 18.53$, $g.l = 3$, $P < 0.0001$) (Figura 4). El análisis *a posteriori* (*HSD*, *Tukey*) ($Q = 2.69$, $\alpha = 0.05$) detectó que las plantas con 25% de daño foliar no difirieron significativamente en la tasa relativa de crecimiento con respecto de las plantas del grupo control, pues la el daño foliar a dicho nivel solo disminuyó en un 18% la TRC ($P = 0.1221$), en cambio. La TRC de las plantas de los niveles de 50% y 75% de daño mecánico se vio disminuida con respecto del grupo control en un 40% y un 57% respectivamente, siendo esta diferencia, estadísticamente significativa ($P < 0.0001$ para ambos grupos). La diferencia en la tasa relativa de crecimiento entre las plantas de los niveles de 25% y 50% no fue estadísticamente significativa ($P = 0.0572$), mismo caso que entre las plantas de los niveles de 50% y 75% de daño foliar ($P = 0.1854$). Entre los niveles de 25% y 75% de daño foliar sí se observó una diferencia significativa en dicha variable ($P = 0.0002$).

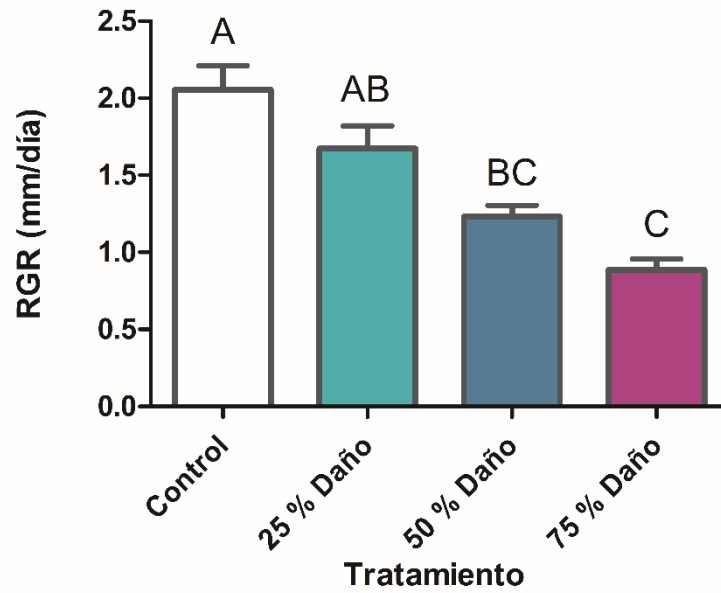


Figura 4. Tasa relativa de crecimiento (TRC o RGR) de las plantas de *C. annuum* var. *glabriusculum* bajo el efecto de tratamientos de daño mecánico foliar. Las barras muestran las medias de 10 réplicas por tratamiento y el error estándar de la media. Los tratamientos que no poseen la misma letra son estadísticamente diferentes.

Tabla II. ANOVA de un factor para la tasa relativa de crecimiento (TRC) de 40 plantas de *C. annuum* var. *glabriusculum* distribuidas en cuatro niveles de daño foliar.

Fuente de variación	<i>gl</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Tratamiento	3	7.79	2.59	18.53	< 0.0001
Error	34	5.04	0.14		
Total	39	12.83			

5.3 Efecto de la defoliación sobre el crecimiento

El análisis de Varianza de dos factores con medidas repetidas estableció que las diferencias en altura de las plantas, considerando únicamente el efecto de daño mecánico no fueron significativas ($F = 2.59$, $g.l. = 3$, $P = 0.0672$, $n = 280$).

Estableció que las diferencias de altura de plantas, considerando únicamente el efecto del tiempo sí fueron significativas ($F = 100.02$, $g.l. = 6$, $P < 0.0001$, $n = 280$). Y estableció también, que el efecto de la interacción Tratamiento x Tiempo tuvo un efecto significativo sobre la variable de respuesta, esto es, la altura de las plantas se vio afectada de manera diferencial por los tratamientos de daño mecánico a través del tiempo ($F = 3.16$, $g.l. = 18$, $P = 0.0002$, $n = 280$) (Figura 5).

Al comparar la curva de crecimiento (Altura x Tiempo x Tratamiento) del tratamiento control contra el de 25% de daño mecánico no se detectaron diferencias significativas ($P = 0.0878$), en cambio, la comparación del tratamiento control contra los tratamientos de 50% y 75% sí mostró diferencias significativas ($P = 0.01$ y $P = 0.0008$ respectivamente).

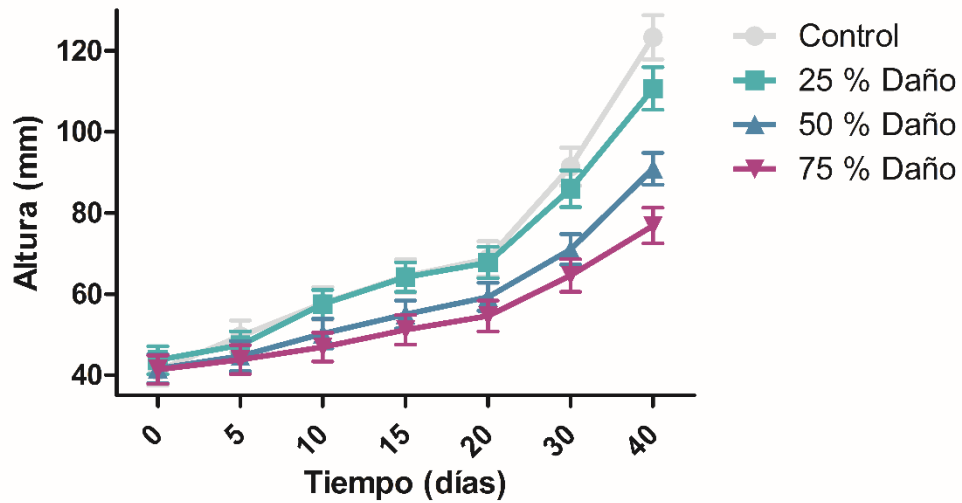


Figura 5. Curvas de crecimiento de plantas de *C. annuum* var. *glabriusculum* durante 40 días bajo el efecto de tratamientos de daño mecánico artificial (control, 25%, 50% y 75%). Los símbolos muestran las medias y las barras el error estándar de la media de 10 réplicas.

Tabla III. ANOVA de dos factores con medidas repetidas para analizar el crecimiento de las plantas de *C. annuum* var. *glabriusculum*. Se registra la significancia de los efectos Tratamiento de daño foliar, Tiempo (efecto fijo) y Tiempo x Tratamiento.

Fuente de variación	Wilk's λ	F	$g.l.$ numerador	$g.l.$ denominador	P
Tratamiento		2.59	3	36	0.06
Tiempo		100.02	6	31	< 0.0001
Tiempo x Tratamiento	0.24	3.16	18	88.16	0.0002

5.4 Respuesta de la hoja al daño foliar

Al igual que en el caso de la variable altura, se utilizó un ANOVA de dos factores con medidas repetidas y este mostró que, considerando únicamente el efecto de los tratamientos de daño mecánico el área foliar difirió significativamente ($F = 8.05$, $g.l. = 3$, $P = 0.0003$, $n = 120$); considerando solo el efecto del tiempo también se detectaron diferencias significativas ($F = 279.62$, $g.l. = 2$, $P = 0.0001$, $n = 120$), mismo caso para la interacción tratamiento x tiempo ($F = 9.60$, $g.l. = 6$, $P = 0.0001$, $n = 120$).

Por tanto, se sugiere que el desarrollo de área foliar se vio afectado diferencialmente por los tratamientos de daño mecánico a través del tiempo (Figura 6). Al comparar la curva de desarrollo foliar del tratamiento control contra las curvas de 25% 50% y 75% de daño se detectaron diferencias significativas ($P = 0.01$, $P = 0.0003$ y $P = 0.0001$, respectivamente).

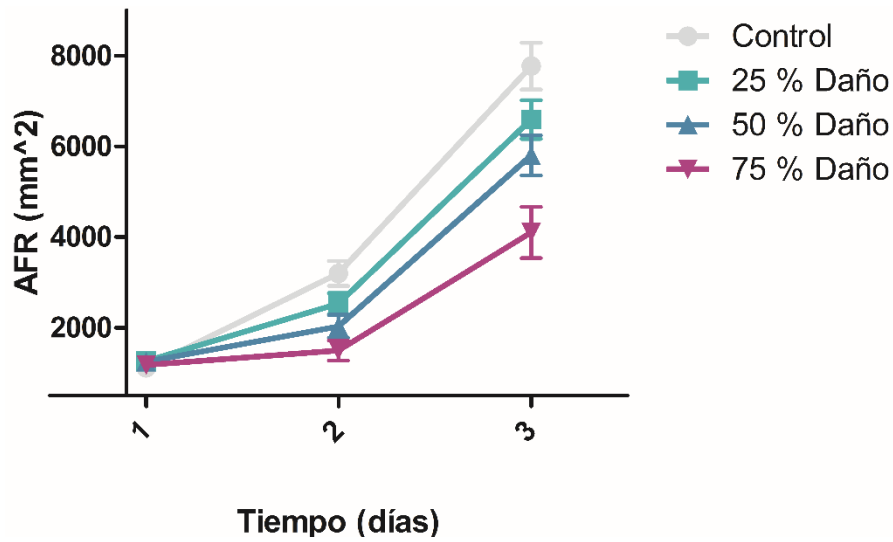


Figura 6. Curvas de área foliar relativa de las plantas de *C. annuum* var. *glabriusculum* durante 40 días (1, 20 y 40 del experimento) bajo tratamientos de daño mecánico (control, 25%, 50% y 75%). Se muestran las medias y error estándar de la media de 10 réplicas.

Tabla IV. ANOVA de dos factores con medidas repetidas para analizar el desarrollo foliar de las plantas de *C. annuum* var. *glabriusculum*. Se registra la significancia de los efectos Tratamiento de daño foliar, Tiempo (efecto fijo) y Tiempo x Tratamiento.

Fuente de variación	Wilk's λ	F	$g.l.$ numerador	$g.l.$ denominador	P
Tratamiento		8.05	3	36	0.0003
Tiempo		279.62	2	35	< 0.0001
Tiempo x Tratamiento	0.30	9.60	6	70	< 0.0001

5.5 Efecto de la defoliación sobre el índice de clorofila

El análisis de varianza de un factor mostró que la diferencia en los índices de clorofila entre los niveles de daño fue estadísticamente significativa ($F = 6.843$, $g.l. = 3$ $P = 0.0009$, $n = 40$) (Figura 7).

El análisis *a posteriori* (*HSD*, *Tukey*) ($Q = 2.69$, $\alpha = 0.05$) detectó que las plantas pertenecientes al nivel de 25% de daño foliar no mostraron una diferencia significativa en el índice de contenido de clorofila con respecto de las plantas control, pues se observó una disminución de apenas un 12% ($P = 0.17$), en cambio, las de los niveles de 50% y 75% de daño foliar experimentaron una disminución de 24% y 20% respectivamente, siendo dicha diferencia con respecto del grupo control, estadísticamente significativa ($P = 0.0009$ y $P = 0.0071$ respectivamente).

La diferencia en el índice de contenido de clorofila entre las plantas de los tratamientos de 25% y 50% no fue estadísticamente significativa ($P = 0.0572$), mismo caso que entre las plantas de los tratamientos de 50% y 75% de daño foliar ($P = 0.1854$). Entre los tratamientos de 25% y 75% de daño foliar sí se observó una diferencia significativa en dicha variable ($P = 0.0002$).

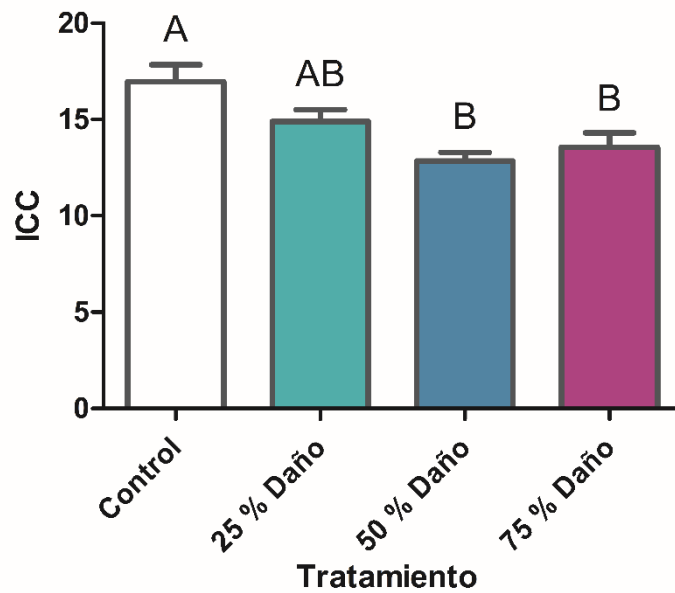


Figura 7. Índice de contenido de clorofila de plantas de *C. annuum* var. *glabriusculum* bajo el efecto de tratamientos de daño mecánico foliar (control, 25%, 50% Y 75%). Las barras muestran las medias de 10 réplicas por tratamiento y el error estándar de la media. Los tratamientos que no poseen la misma letra son estadísticamente diferentes.

Tabla V. ANOVA de un factor para el índice de contenido de clorofila de 40 plantas de chile silvestre (*C. annuum* var. *glabriusculum*) distribuidas en cuatro tratamientos de daño foliar.

Fuente de variación	<i>gl</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Tratamiento	3	98.28	32.76	6.84	0.0009
Error	36	172.35	4.78		
Total	39	270.64			

5.6 Efecto de la defoliación sobre la arquitectura del chile silvestre

El ANCOVA detectó que el daño foliar no ejerce un efecto significativo sobre la covarianza de la variable dependiente (altura) con respecto de la independiente (área) ($F = 2.06$, $g.l. = 3$, $P = 0.12$, $n = 40$), a pesar de que la altura responde significativamente al área foliar ($F = 40.55$, $g.l. = 1$, $P < 0.0001$, $n = 40$)

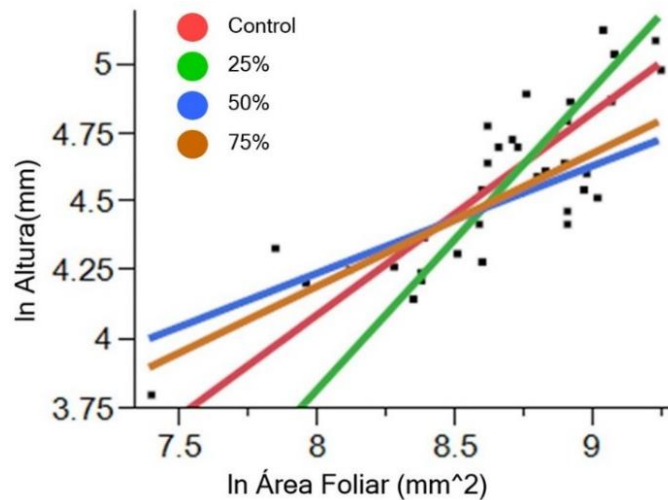


Figura 8. Regresión lineal múltiple (ANCOVA) de los valores de altura y área foliar de 40 individuos de *C. annuum* var. *glabriusculum*. Los valores fueron transformados a logaritmo natural (ln). Las pendientes no difirieron significativamente, por tanto el efecto del tratamiento de daño foliar no influyó en la relación altura-área.

Tabla VI. Tabla de ANCOVA para evaluar los efectos de los tratamientos de daño foliar sobre la arquitectura de *C. annuum* var. *glabriusculum*.

Fuente de variación	N parámetro	gl	SS	F	P
Área Foliar	1	1	0.99	40.55	< 0.0001
Tratamiento	3	3	0.01	0.20	0.89
Área Foliar x Tratamiento	3	3	0.15	2.06	0.12

6. DISCUSIÓN

El presente estudio encontró que el chile silvestre (*Capsicum. annuum* var. *glabriusculum*) responde apreciablemente al daño mecánico en las variables tasa de crecimiento relativa (TRC), crecimiento (altura), área foliar, contenido de clorofila y arquitectura de las plantas. El daño tuvo en general un efecto negativo que provocó una disminución en el vigor de las plantas. Además los resultados demuestran que el chile silvestre puede tolerar hasta una reducción del 25% del área foliar sin que se vea comprometido el crecimiento de su tallo y sin que se vea alterada significativamente la concentración de clorofila en sus hojas. Se descartó la respuesta compensatoria de área foliar como mecanismo de tolerancia, pues es el tejido que se resulta directamente dañado y posiblemente esto limita su respuesta defensiva.

6.1 Efecto de la defoliación sobre la tasa relativa de crecimiento (RGR)

Se ha propuesto que el incremento o el mantenimiento de la tasa relativa de crecimiento es un mecanismo de tolerancia (Tiffin, 2000), esto es, si una planta que sufrió defoliación, incrementa o sostiene la misma tasa relativa de crecimiento, será capaz de amortiguar los efectos de la defoliación sobre su vigor y/o su fitness (Strauss y Agrawal 1999; Stowe *et al.*, 2000; Tiffin, 2000; Nuñez-Farfán *et al.*, 2007; Bello-Bedoy y Nuñez-Farfán, 2010; Carmona *et al.*, 2011; Camargo *et al.*, 2015).

Sin embargo, el nivel de tolerancia puede variar dentro de las poblaciones y especies debido a variación genética (Núñez-Farfán *et al.*, 2007), y a la intensidad del daño que recibe un planta (Fornoni y Núñez Farfán 2000).

Este estudio encontró que las plantas de chile silvestre muestran una tolerancia completa en términos de crecimiento a un nivel de 25%. La remoción del 25% del área foliar de *C. annuum* var. *glabriusculum* contribuyó a una disminución de apenas 18% en su tasa relativa de crecimiento, que además no difiere de las plantas que no recibieron daño en este experimento. Estos resultados evidencian a la tasa relativa de crecimiento como un mecanismo de tolerancia que puede deberse al amortiguamiento que las fitohormonas (Auxinas y Giberelinas, principalmente) desempeñan en su biosíntesis, ubicación y señalización, promoviendo así el crecimiento apical e intermodal (Taiz y Zeiger, 2010). Se puede sugerir también que intervalo de tolerancia a la defoliación va al menos, desde el 1% hasta 25% de remoción de área foliar, esto porque no se probó la respuesta utilizando valores de defoliación entre 26% y 49%.

Se ha reportado que los límites de tolerancia a la herbivoría se aproximan al 18% de remoción de área foliar (Strauss y Agrawal, 1999). Sin embargo hay especies como *Piper arieianum*, en la cual la remoción del 10% de su área foliar es suficiente para reducir su fitness (Marquis, 1994), por otra parte se ha revelado que en especies silvestres como el rábano (*Raphanus raphanistrum*) ni el 25% de remoción de área foliar disminuye su fitness (Lehtilä y Strauss, 1999). Por otra parte, Dipp (2015) estudió cuatro poblaciones silvestres de *Capsicum. annuum* var. *glabriusculum* y encontró que en tres de ellas se experimenta daño foliar desde 5% hasta 12% y la estrategia de tolerancia es la que maximiza la adecuación en términos de semillas, la población restante utiliza la resistencia para maximizar su adecuación.

Los cambios en tasa relativa de crecimiento en este estudio pueden ser propuestos como un mecanismo maximizador de la tolerancia en el chile silvestre, esto puede deberse a que la tasa relativa de crecimiento se expresa (incrementa o se mantiene) como mecanismo de tolerancia en un nivel de daño foliar que puede ser amortiguado por la planta, es decir, que no provoca costos en el fitness. De esta manera podríamos pensar que un nivel de daño foliar mayor a 25% representaría costos y desvió de recursos que te repercutirían en una disminución del éxito reproductivo del chile silvestre.

6.2 Efectos de la defoliación sobre el crecimiento

Bajo las condiciones mencionadas y los hallazgos de este trabajo se puede argumentar que el daño foliar altera la forma de crecimiento del chile silvestre pudiendo conferir una reducción parcial de su fitness, ya que la estatura alcanzada en cierto intervalo de tiempo influye en que tan atractiva podrá una planta ser para los polinizadores o qué tanta es su capacidad para captar luz (tasa fotosintética) y desarrollar sus frutos y semillas (Stowe *et al.*, 2000). Nosotros encontramos que los tratamientos de 50% y 75% de daño foliar alteran significativamente la forma crecimiento del chile silvestre al disminuir su tasa de crecimiento en un tiempo dado, asimismo la altura que este puede alcanzar en un tiempo determinado. En cambio, el grupo con 25% de defoliación, no experimentó dicha disminución, esto sugiere que la respuesta plástica del genotipo de chile silvestre de Papantla Veracruz es capaz de amortiguar tal nivel de daño sin involucrar costos en el fitness. Hasta el día 20 del experimento, las curvas de crecimiento de todos los tratamientos de daño foliar (incluido el grupo control) mostraron una tendencia más o menos similar, pero a partir de una medición subsecuente hay un punto de inflexión, donde los grupos bajo los

tratamientos de 50% y 75% de daño foliar experimentaron una disminución en su tasa de crecimiento, llevando esto, a que las plantas alcancen finalmente, una estatura menor y por tanto teniendo costos en el fitness.

Caso contrario del grupo bajo el tratamiento de 25% de daño foliar, el cual experimentó una inflexión similar al grupo control. Esto se puede deber a que dado que la tolerancia es una respuesta plástica (Heil, 2010) que se expresa en mayor medida en etapas muy tempranas del desarrollo (Boege *et al.*, 2007), el tratamiento de 25% de daño foliar no fue suficiente para alterar la forma de crecimiento, ni en una etapa temprano, ni en una más tardía (a partir del día 20), por tanto se puede sugerir que la respuesta plástica tolerante del chile silvestre se ve influenciada directamente por el nivel de daño foliar y por su ontogenia.

6.3 Efectos de la defoliación sobre el área foliar

La compensación de tejido foliar es una estrategia de tolerancia que involucra reasignación de recursos a tejidos dañados, ya sea para reponer el área removida o para evitar infecciones posteriores al daño (Strauss y Agrawal, 1999; Stowe *et al.*, 2000; Tiffin, 2000; Camargo *et al.*, 2015).

De esta manera, se esperaría que los niveles altos (50% y 75%) de daño foliar impuestos sobre el chile silvestre en este estudio sí, alterasen el área foliar que desarrolla (follaje), pero que en niveles bajos de daño foliar como 25% se pudiese expresar una respuesta plástica de tolerancia. Sin embargo, la evidencia de nuestro trabajo sugiere que el chile silvestre no experimenta sobrecompensación al menos en niveles mayores a 25% de daño foliar, lo cual puede deberse a que tal nivel de defoliación no permite expresar la estrategia

defensiva sin sacrificar recursos y por tanto, tener costos en su fitness.

Nuestros resultados contrastan con el trabajo de Camargo y colaboradores (2015), quienes impusieron daño foliar artificial de 35% sobre *Datura stramonium* L. (Solanaceae) y evidenciaron el papel de la sobrecompensación de tejido en la maximización del fitness de dicha especie, pues al comparar el número de semillas producidas entre plantas con daño y sin daño no se detectaron diferencias significativas. En 2013, Korpita y colaboradores encontraron que el tomate (*Solanum lycopersicum*) (Solanaceae), es capaz de sobrecompensar tejido tras haber recibido defoliación artificial y herbivoría impuesta por enemigos naturales. Esta evidencia sugiere que el chile silvestre, quien también es miembro de la familia Solanaceae pudiese expresar altos niveles de tolerancia a la herbivoría, sin embargo, esto depende de su historia natural y de que en su ambiente natural probablemente no recibe defoliación de 25% debido a la utilización de otras estrategias defensivas (Dipp, 2015). Además esto revela el papel que pudiesen tener los componentes de la resistencia (tricomas) en el chile silvestre, (Dipp, 2015), es decir; ¿para qué tendría el chile silvestre, altos niveles de tolerancia, si utilizando mecanismos de resistencia mantiene un fitness alto en su entorno natural? (Nuñez-Farfán *et al.*, 2007; Kariñho-Betancourt y Nuñez-Farfán 2015).

6.4 Efectos de la defoliación sobre el contenido de clorofila

El papel de la clorofila en los mecanismos de tolerancia ha cobrado importancia en años recientes, se comenta los niveles de clorofila decrecen tras haber defoliación, pues su biosíntesis conlleva gastos en producción de precursores, cofactores y enzimas en una ruta metabólica de al menos 12 pasos, los recursos son desviados hacia el crecimiento

compensatorio de tejidos no dañados (Taiz y Zeiger, 2010; Salgado-Luarte y Gianoli, 2011; Barton, 2013; Korpita *et al.*, 2013).

En nuestro trabajo encontramos un patrón interesante; el tratamiento de 25% de daño foliar suscitó una disminución de 12% en los niveles de clorofila con respecto del grupo control (diferencia no significativa), el tratamiento de 50% de daño foliar provocó una disminución de 24% (diferencia significativa), en los niveles de clorofila con respecto del grupo control y, el tratamiento de 75% de daño foliar acarreo únicamente una disminución de 20% (diferencia significativa) en los niveles de clorofila con respecto del grupo control.

Por tanto, se sugiere que el tratamiento de 25% de daño foliar no contribuye a un decremento significativo en el contenido de clorofila, lo cual indica posiblemente, que la fisiología del chile silvestre le permite amortiguar tal nivel de daño mediante incrementos de tasa fotosintética sin comprometer el rendimiento de la planta (Stowe *et al.*, 2000; Tiffin, 2000).

Una posible explicación al hecho de que el tratamiento de 50% de daño foliar haya provocado una disminución en el contenido de clorofila menor a la que provocó el tratamiento de 75% de daño foliar; es que al remover un porcentaje alto de área foliar de hojas apicales, sí, se disminuye el área fotosintética, pero se incrementan los niveles de luz hacia partes previamente sombreadas, incrementando de esta manera, la tasa fotosintética de las hojas remanentes (Strauss y Agrawal, 1999).

6.5 Efecto del daño mecánico sobre la arquitectura del chile silvestre

El daño foliar no alteró la relación altura-área, esto podría indicar que en el chile silvestre, se invierten recursos para que, en una planta dañada se mantenga una arquitectura similar a una planta no dañada, ya que los cambios arquitectónicos pueden conllevar disminución en la atracción de polinizadores en plantas de estatura menor a la media poblacional y propiciar así, una reducción de fitness (Stowe *et al.*, 2000; Carmona *et al.*, 2011).

Un mecanismo de tolerancia similar se ha propuesto en el tomate silvestre, en esta especie, la parte apical es más estrecha que las partes inferiores, por lo cual los niveles de luz que reciben las partes inferiores no se ven atenuados (Crawley, 1989). En la figura 8 se puede apreciar que, a pesar de que la mayoría de los individuos se encuentran en una relación 1/2 de altura/área, hay otros, pertenecientes a los tratamientos de 50% y 75% de daño foliar, cuya relación es 7/16, lo cual indica que la defoliación en niveles altos hace que algunas plantas del chile silvestre sometidas a tratamientos sean más “chaparritas”, por tanto su arquitectura se ve modificada como respuesta plástica (pero véase Rosenthal y Welter, 1995).

7. CONCLUSIONES

La tasa relativa de crecimiento del chile silvestre tiene un papel importante en la respuesta plástica ante la defoliación de hasta 25% de su área foliar. Lo cual sugiere que en su ambiente natural, el chile silvestre se puede servir de este mecanismo para defenderse de sus enemigos naturales.

La forma de crecimiento del chile silvestre puede ser alterada por el daño foliar, sin embargo, esta especie es capaz de presentar una respuesta plástica ante un 25% de defoliación sin involucrar costos en el fitness.

En el chile silvestre, la defoliación no involucra una respuesta plástica mediante sobrecompensación de tejido foliar, lo que indica que utilizar ese mecanismo de tolerancia le conllevaría un sacrificio de recursos que repercutiría en su fitness.

Se detectaron incrementos en la tasa fotosintética del chile silvestre como mecanismo de tolerancia en defoliación de hasta 25% de su área foliar. Se sugirió además una respuesta plástica donde en un nivel de 75% de daño foliar se incrementan los niveles de clorofila debido a la mayor disponibilidad de luz provocada por la defoliación.

Se sugiere que el límite de tolerancia a la herbivoría, en el chile silvestre podría ser mayor a 25% de defoliación, sin embargo se podría considerar que la tolerancia no es el único mecanismo defensivo en el chile silvestre, pues se ha demostrado el papel de componentes de la resistencia en la defensa del mismo, en dado caso, en lugar de implicar costos posteriores al ataque, se invierte en prevenirlos o disminuirlos.

8. LITERATURA CITADA

- Agrawal, A. 2001. Phenotypic plasticity in the interactions and evolution of species. *Science*. 294: 321-326.
- Agrawal, A. 2011. Current trends in the evolutionary ecology of plant defense. *Functional Ecology*. 25: 420–432.
- Ahn, J., F. Badenes-Pérez y D. Heckel. 2011. A host-plant specialist, *Helicoverpa assulta*, is more tolerant to capsaicin from *Capsicum annuum* than other noctuid species. *Journal of Insect Physiology*. 57: 1212-1219.
- Araiza-Lizarde, N., Araiza-Lizarde, E. y J. Martínez-Martínez. 2011. Evaluación de la germinación y crecimiento de plántula de chiltepín (*Capsicum annuum* L variedad *glabriusculum*) en invernadero. *Revista Colombiana de Biotecnología*. 13: 170–175.
- Barton, K. 2013. Ontogenetic patterns in the mechanisms of tolerance to herbivory in *Plantago*. *Annals of Botany*. 112: 711-720.
- Baucom R. y J. de Roode. 2011. Ecological immunology and tolerance in plants and animals. *Functional Ecology*. 25: 18-28.
- Bello-Bedoy, R. y J. Núñez-Farfán. 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.
- Boege, K. y R. Marquis. 2005. Facing herbivory as you grow up: the ontogeny of resistance in plants. *Trends in Ecology and Evolution*. 20: 441-448.

- Boege, K., R. Dirzo, D. Siemens y P. Brown. 2007. Ontogenetics switches from plant resistance to tolerance: minimizing costs with age? *Ecology Letters*. 10: 177-187.
- Camargo, I. R. Tapia-López y J. Nuñez-Farfán. 2015. Ecotypic variation in growth responses to simulated herbivory: trade-off between maximum relative growth rate and tolerance to defoliation in an annual plant. *AoB PLANTS* 7: plv015; doi:10.1093/aobpla/.
- Carmona, D. y J. Fornoni. 2013. Herbivores can select for mixed defensive strategies in plants. *New Phytologist*. 197: 576-585.
- Carmona, D., M. Lajeunesse y M. Johnson. 2011. Plant traits that predict resistance to herbivores. *Functional Ecology*. 25: 358–367.
- Crawley, M. 1983. *Herbivory the dynamics of animal-plants interactions*. Studies in ecology Berkeley, University of California 487 Pp.
- Crawley, M. 1989. Insect herbivores and plant population dynamics. *Annual Review of Entomology*. 34: 531-564.
- Dicke, M. y M. Hilker. 2003. Induced plant defences: from molecular biology to evolutionary ecology. *Basic and Applied Ecology*. 4: 3–14.
- Dipp, M. 2015. Variación fenotípica en Resistencia contra herbívoros y éxito reproductivo en cuatro poblaciones silvestres de chiltepín *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UABC. Ensenada, Baja California. 28. Pp.
- Ehrlich, P. y P. Raven. 1964. Butterflies and plants: a study in coevolution. *Evolution*. 8: 586–608.

- Escarré, J., J. Lepart, y J. Sentuc. 1996. Effects of simulated herbivory in three old field compositae with different inflorescence architectures. *Oecologia*. 105: 501–508.
- Fornoni, J. 2011. Ecological and evolutionary implications of plant tolerance to herbivory. *Functional Ecology*. 25: 399-407.
- Fornoni, J., P. Valverde y J. Nuñez-Farfán. 2003. Quantitative genetics of plant tolerance and resistance against natural enemies of two natural populations of *Datura stramonium*. *Evolutionary Ecology Research*. 5: 1049-1065.
- Garrido-Espinosa, E. y J. Fornoni. 2006. Host tolerance does not impose selection on natural enemies. *New Phytologist*. 170: 609-614.
- González-Jara, P., A. Moreno-Letelier, A. Fraile, D. Piñero y F. García-Arenal. 2011. Impact of human management on the genetic variation of wild pepper, *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*. *PLoS ONE*. 6, e28715. doi:10.1371/journal.pone.0028715.
- Heil, M. 2010. Plastic defence expression in plants. *Evolutionary Ecology*. 24: 555-569.
- Hernández-Verdugo, S., K. Oyama y C. Vázquez-Yanes. 2001. Differentiation in seed germination among populations of *Capsicum annuum* along a latitudinal gradient in Mexico. *Plant Ecology*. 155: 245–257.
- Hochwender, C., E. Janson, D. Ho Cha y R. Fritz. 2005. Community structure of insect herbivores in a hybrid system: examining the effects of browsing damage and plant genetic variation. *Ecological Entomology*. 30: 170-175.
- Hoque, S. y G. Ávila-Sakar. 2015. Trade-offs and ontogenetic changes in resistance and tolerance to insect herbivory in *Arabidopsis*. *International Journal of Plant Sciences*. 176: 000-

000.

- Johnson, M. 2011. Evolutionary ecology of plant defences against herbivores. *Functional Ecology*. 25: 305-311.
- Karban, R. 2011. The ecology and evolution of induced resistance against herbivores. *Functional Ecology*. 25: 339–347.
- Karban, R. y J. Myers. 1989. Induced plant responses to herbivory. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 20: 331–348.
- Karban, R., A. Agrawal, y M. Mangel. 1997. The benefits of induced defenses against herbivores. *Ecology*. 78: 1351–1355.
- Kariñho-Betancourt, E. y J. Nuñez-Farfán. 2015. Evolution of resistance and tolerance to herbivores: testing the trade-off hypothesis. *PeerJ* 3:e789; DOI 10.7717/peerj.789
- Kessler, A. y M. Heil. 2011. The multiple faces of indirect defenses and their agents of natural selection. *Functional Ecology*. 25: 348-357.
- Korpita, T., S. Gómez y C. Orians. 2013. Cues from a specialist herbivore increase tolerance to defoliation in tomato. *Functional Ecology*. 28: 395-401.
- Kraft, H., J. Luna-Ruíz y P. Gepts. 2013. A new collection of wild populations of *Capsicum* in Mexico and the southern United States. *Genetic Resources Crop Evolution*. 60: 225-232.
- Lehtilä, K. y S. Strauss. 1999. Effects of the foliar herbivory on male and female reproductive traits of wild radish, *Raphanus raphanistrum*. *Ecology*. 80: 116-124.
- Marquis, R. 1984. Leaf herbivores decrease fitness of a tropical plant. *Science* 226: 537–539.
- Marquis, R. 1996. Plant architecture, sectoriality and plant tolerance to herbivores. *Vegetatio*.

127: 85-97.

- Núñez-Farfán, J., J. Fornoni y P. Valverde. 2007. The evolution of resistance and tolerance to herbivores. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*. 38: 541–566.
- Oerke, E. y H. Dehne. 2004. Safeguarding production-losses in major crops and the role of crop protection. *Crop Protection*. 23: 275-285.
- Pagán, I., M. Betancourt, J. de Miguel, D. Piñero, A. Fraile y F. García-Arenal. 2010. Genomic and biological characterization of chiltepín yellow mosaic virus, a new tymovirus infecting *Capsicum annuum* var. *aviculare* in Mexico. *Archives of Virology*. 155: 675–84.
- Pickersgill, B. 1971. Relationships between weedy and cultivated forms in some species of chili peppers (genus *capsicum*). *Evolution*. 25: 683-691.
- Pilson, D. 2001. The evolution of plant response to herbivory : simultaneously considering resistance and tolerance in *Brassica rapa*. *Evolutionary Ecology*. 14: 457–489.
- Price, P. 1991. The plant vigor hypothesis and herbivore attack. *OIKOS*. 62: 244-251.
- Reinhardt, D. y C. Kuhlemeier. 2002. Plant architecture. *European Molecular Biology Organization*. 3: 846-851.
- Rodríguez-Maturino, A., R. Troncoso-Rojas, A. Sánchez-Estrada, D. González-Mendoza, E. Ruiz-Sánchez, R. Zamora-Bustillos, C. Ceceña-Durán, O. Grimaldo-Juarez y M. Aviles-Marin. 2015. Efecto antifúngico de extractos fenólicos y de carotenoides de chiltepín (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*, en *Alternaria alternata* y *Fusarium oxysporum*. *Revista Argentina de Microbiología*. 47: 72-77.

- Rosenthal, J. y S. Welter. 1995. Tolerance to herbivory by a stem-boring caterpillar in architecturally distinct maizes and wild relatives. *Oecologia*. 102: 146-155.
- Salgado-Luarte, C. y E. Gianoli. 2011. Herbivory may modify functional responses to shade in seedlings of a light-demanding tree species. *Functional Ecology*. 25: 492-499.
- Schmidt, S. e I. Baldwin. 2009. Down-regulation of system in after herbivory is associated with increased root allocation and competitive ability in *Solanum nigrum*. *Oecologia*. 159: 473-482.
- Schmitt, J., J. Niles y R. Wulff. 1992. Norms of reaction of seed traits to maternal environments in *Plantago lanceolata*. *American Naturalist*. 139: 451-466.
- Simms, E. 2000. Defining tolerance as a norm of reaction. *Evolutionary Ecology*. 14: 563-570.
- Stinchcombe, J. 2002. Can tolerance traits impose selection on herbivores? *Evolutionary Ecology*. 16: 595-602.
- Stowe, K., J. Marquis, C. Hochwender y E. Simms. 2000. The evolutionary ecology of tolerance to consumer damage. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 31: 565-595
- Strauss, S. y A. Agrawal. 1999. The ecology and evolution of plant tolerance to herbivory. *Trends in Ecology & Evolution*. 14: 179-185.
- Taiz, L., Zeiger, E., 2010. Auxin: The growth hormone. In: Taiz, L., Zeiger, E. (Eds.), *Plant Physiology*. Sinauer Associates Inc., Sunderland, pp. 424-460.
- Tewksbury, J., G. Nabhan, D. Norman, H. Suzan, J. Tuxill, *et al.* 1998. In situ conservation of wild chilies and their biotic associates. *Conservation Biology*. 13: 98-107.
- Tewksbury, J., K. Reagan, N. Machnický, T. Carlo, D. Haak, *et al.* 2008. Evolutionary ecology

- of pungency in wild chilies. PNAS. [cgi_doi_10.1073_pnas.0802691105](https://doi.org/10.1073/pnas.0802691105).
- Tiffin, P. 2000. Mechanisms of tolerance to herbivore damage: what do we know? *Evolutionary Ecology*. 14: 523-563.
- Tucker, C. y G. Ávila-Sakar. 2010. Ontogenetic changes in tolerance to herbivory in *Arabidopsis*. *Oecologia*. 164: 1005-1015.
- Utsumi, S. y T. Ohgushi. 2008. Host plant variation in plant-mediated indirect effects: moth boring-induced susceptibility of willows to a specialist leaf beetle. *Ecological Entomology*. 33: 250-260.
- Villalón-Mendoza, H., T. Medina-Martinez y M. Ramírez-Meráz. 2013. Factores de calidad de la semilla de chile silvestre (*Capsicum annuum* L var. *glabriusculum*). *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*. 4: 182-187.
- Votava, E., G. Nabhan y P. Bosland. 2002. Genetic diversity and similarity via molecular analysis among and within an in situ population and ex situ accessions of chiltepín (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*). *Conservation Genetics*. 3: 123-129.