



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS

EFECTO DEL HERBIVORISMO EN LA ESTRUCTURA CELULAR

DE LA EPIDERMIS FOLIAR EN CHILES SILVESTRES Y

DOMESTICADOS (*Capsicum annuum*)

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

BIÓLOGO

PRESENTA

ELISA LUNA ZÚÑIGA

Ensenada, BC.

Febrero de 2023

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS

EFFECTO DEL HERBIVORISMO EN LA ESTRUCTURA CELULAR

DE LA EPIDERMIS FOLIAR EN CHILES SILVESTRES Y

DOMESTICADOS (*Capsicum annuum*)

TESIS PROFESIONAL

QUE PRESENTA

ELISA LUNA ZÚÑIGA

APROBADO POR:



Dr. Rafael Bello Bedoy
Director



M. C. María Virginia Solís Montero
Codirector



Dr. Alejandro Sánchez González
Sinodal



Dra. María Evarista Arellano García
Sinodal

Resumen de la tesis de Elisa Luna Zúñiga como requisito parcial para la obtención de la Licenciatura en Biología.

Ensenada, Baja California, México. Febrero del 2023.

Efecto el herbivorismo en la estructura celular de la epidermis foliar en chiles silvestres y domesticados (*Capsicum annuum*)

Resumen aprobado:



Dr. Rafael Bello Bedoy
Director de tesis



M. C. María Virginia Solís Montero
Codirector de tesis

La hipótesis de la domesticación en plantas sugiere que la domesticación afectará los caracteres funcionales de las plantas y su capacidad de respuesta al daño foliar por herbívoros. Dos rasgos críticos en las plantas son la densidad de estomas y de tricomas que participan en la evapotranspiración y la resistencia contra herbívoros, respectivamente. Este estudio evaluó si el daño por *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) altera la composición celular epidermal en *Capsicum annuum* (Solanaceae) y sus implicaciones funcionales. Dos variedades domesticadas y una silvestre se expusieron a los tratamientos de daño mecánico, daño por herbívoro (*S. frugiperda*) y metil-jasmonato para evaluar si la domesticación afecta la defensa inducida al daño por herbívoros y si esta respuesta ocurría vía jasmonato. Los tratamientos se compararon contra plantas intactas. Cada tratamiento incluyó 4 plantas y se obtuvieron 2 conteos por planta. Los datos obtenidos en el experimento se analizaron por medio de Análisis de Varianza. Los resultados de la cara abaxial mostraron que la densidad de tricomas abaxial mostró diferencias significativas entre tratamientos, pero las células de pavimento y estomas no variaron. Entre variedades, esta medida tuvo diferencias significativas en el tratamiento de daño por herbívoro ($p=0.02$) entre las variedades domesticada y semi domesticada; así mismo, la variedad semi domesticada mostró diferencias significativas entre el control y herbívoro ($p=0.006$), control y jasmonato ($p=0.015$), daño mecánico y herbívoro ($p=0.002$) y daño mecánico y jasmonato ($p=0.005$). En conjunto, los datos demuestran que la domesticación en *C. annuum* tiene un efecto en su capacidad de responder ante la inducción de daño por herbívoro. Además, los resultados demuestran que la inducción de tricomas es regulada por la vía de ácido jasmónico.

Palabras clave: *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*, defensa, estomas, evapotranspiración, domesticación, herbivorismo, inducción, jasmonato, resistencia contra herbívoros, tricomas.

Summary of the thesis presented by Elisa Luna Zúñiga as a partial requirement to obtain the Bachelor's Degree in Biology.

Ensenada, Baja California, Mexico. February 2023.

Effect of herbivory on the cellular structure of the leaf epidermis in wild and domesticated peppers (*Capsicum annuum*)

Summary approved by:



Dr. Rafael Bello Bedoy
Thesis director



M. C. María Virginia Solís Montero
Thesis co-director

The domestication hypothesis in plants suggests that domestication will affect the functional traits of plants and their ability to respond to herbivore-induced leaf damage. Two important functional traits in plants are stomata and trichome densities which participate in evapotranspiration and resistance against herbivores, respectively. The present study aimed to evaluate whether *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) damage alters epidermal cell composition in *Capsicum annuum* (Solanaceae) and its functional implications. A sample of two domesticated varieties (yahualica and jalapeño) and one wild population were subjected to mechanical damage, herbivore damage and methyl-jasmonate treatments to assess whether domestication affects herbivore-induced defense and whether this response occurred via jasmonate. The treatments were compared against intact plants, with each treatment comprising four plants and two epidermal counts were obtained per plant. The data obtained in the experiment were analyzed using Analysis of Variance. The results showed significant differences in abaxial trichome density between treatments, but pavement cells and stomata did not vary. Significant differences in trichome density between varieties were observed in the herbivore damage treatment ($p=0.02$) between domesticated varieties. Similarly, yahualica plants showed significant differences in control and herbivore ($p=0.006$), control and jasmonate ($p=0.015$), mechanical and herbivore damage ($p=0.002$), and mechanical damage and jasmonate ($p=0.005$). Together, the data demonstrate that domestication in *C. annuum* affects its ability to respond to herbivore damage. Furthermore, the results suggest that trichome induction is regulated by the jasmonic acid pathway.

Key words: *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*, defense, stomata, evapotranspiration, domestication, herbivory, induction, jasmonate, resistance against herbivores, trichome.

Agradecimientos

A mi **director** de tesis, Dr. Rafael Bello Bedoy por darme la oportunidad de trabajar en su laboratorio desde 3er semestre, por todos los consejos y comentarios que han sido gran parte de mi formación académica.

A mi **co-directora**, M. C. María Virginia Solis Montero por la motivación para terminar con este trabajo y todos los consejos otorgados.

Gracias a Conacyt por el financiamiento otorgado al Dr. Rafael Bello en el proyecto Conacyt CB 2015-1, número 255631, por el financiamiento para los insumos del experimento de tesis; así como al proyecto de INFRA 2014-1, número 226239, por el financiamiento para el equipo que fue usado durante el experimento.

A todos los integrantes del laboratorio de Genética Ecológica de la UABC que me ayudaron a montar este experimento pero sobre todo a Carlos Serrano por los cursos de impresión y conteo de células y a Emil por siempre estar ahí.

Un agradecimiento especial a los profesores que me encaminaron al mundo de la estadística con la pasión con la que enseñaban: Dr. Ernesto Campos González, M.C. Catalina Inés Cortés Vélez y a la Dra. Alejandra González Ramos, quien no sólo agradezco iniciar este camino, también todas las lecciones y consejos.

Asimismo, un agradecimiento distintivo a mi *Alma mater*, la UABC. Por la realización plena de que las lecciones duras son las más formativas.

A todos mis amigos de la universidad que hicieron inolvidable estos casi 5 años y también hicieron posible este trabajo con su apoyo moral, mención honorífica a: Heryen Collins, Andrea Pompa, Nathyyy, Jorguito, David Mora, Ilseli, Carlitos y Marcypow. A mis chicas hermosas que siempre hayan un motivo para cantar o bailar: Sarahí, Dani, Paula, Lilip y Carito (obvio también al sobrinito Noah). A mi gran amiga Elvia por todas nuestras experiencias en Morelia que me hicieron considerarte una hermana más.

A mi hermano Alden por aguantar a la Elisa gruñona que no le muestro casi a nadie y por siempre hacerme reír, especialmente en los momentos donde reír se ve imposible. A mi shofis, por siempre cuidar de la bebota, por todos nuestros viajes juntas (ya sea en avión o en recuerdos) y todas las consultas por whats que en algún momento pienso pagar.

A mis padres por siempre consentirme y reírse de mis errores que en su momento me parecen catastróficos. Por patrocinarme con la beca Luna-Zúñiga y permitirme perseguir mis sueños. Por todos los viajes a Loreto con paradas en medio de la carretera para identificar plantas. Tantas cosas que agradecer que este parrafito nunca será suficiente.

Finalmente, muchísimas gracias al esquidi, mi rorro: por introducirme un lado de la biología que jamás creí era para mí, por desempolvar a la talichona que atrapa sapitos en su jardín y ama soplar burbujas, por abrazarme cada vez que algo me sale mal, por enseñarme todos los colores del arcoíris (aunque odié completamente el azul), por los *Pachygrapsus* que algún día me vas a enseñar atrapar y por todas las lagartijas que faltan por pescar.

A mi mamá,

Porque de todas tus historias y consejos, el que siempre llevo conmigo es que la biología es hermosa aunque a veces se sienta como un capítulo de aminoácidos.

Índice de trabajo

a) Contenido

	Página
Resumen en español.....	I
Resumen en inglés.....	II
Agradecimientos.....	III
Dedicatoria.....	IV
Lista de figuras.....	VI
Lista de cuadros.....	VI
Capítulo 1. Introducción.....	1
1.1. Antecedentes.....	5
1.2. Hipótesis.....	8
1.3. Objetivos.....	8
1.3.1 Objetivo general.....	8
1.3.2. Objetivos específicos.....	8
Capítulo 2. Metodología.....	9
2.1. Sistema de estudio.....	9
2.2. Material biológico.....	10
2.3. Diseño experimental.....	10
2.3.1. Germinación y cuidado de plantas.....	10
2.3.2 Aplicación de tratamientos.....	11
2.3.3 Impresión de epidermis.....	12
2.3.4 Cuantificación de células especializadas.....	13
2.3.5 Análisis estadísticos.....	15
Capítulo 3. Resultados.....	18
3.1. Respuesta ante tratamientos.....	18
3.2. Diferencia entre variedades.....	24
3.3. Correlación entre células especializadas.....	27
Capítulo 4. Discusión.....	28
Capítulo 5. Conclusiones.....	35
Literatura citada.....	36

b) Figuras

Figura	Página
1. Fotografía de <i>clip cage</i>	13
2. Fotografía de los tratamientos.....	13
3. Fotografía de una hoja de <i>C. annuum</i> por ambas superficies.....	14
4. Micrografía de una superficie abaxial de <i>C. annuum</i> observada en el objetivo 10x.....	16
5. Micrografía de una superficie adaxial de <i>C. annuum</i> observada en el objetivo 40x.....	16
6. Variación en la densidad promedio de tricomas ($\pm 1EE$) entre los tratamientos.....	19
7. Variación en la densidad promedio de tricomas ($\pm 1EE$) por variedades en ambas superficies entre tratamientos.....	22
8. Variación en los promedios de las medidas ($\pm 1EE$) de las células especializadas entre variedades.....	24
9. Variación del promedio de la densidad de tricomas ($\pm 1EE$) abaxial de las variedades en cada tratamiento.....	26

c) Cuadros

Cuadro	Página
I. Valores obtenidos en las pruebas ANOVA de dos vías realizadas para cada variable medida en ambas superficies.....	20
II. Valores significativos obtenidos en las pruebas <i>Post Hoc</i> de Tukey, a partir de los valores significativos de las pruebas ANOVA del cuadro I.....	20
III. Valores obtenidos en las pruebas ANOVA de una vía realizadas para comparar los tratamientos en cada variedad en la medida de densidad de tricomas en ambas superficies.....	22
IV. Matriz con valores de correlación según prueba Spearman entre las densidades de las células especializadas en ambas superficies.....	27

1. Introducción

La vida sésil de las plantas ha promovido una capacidad para responder a los diferentes retos que tienen las plantas en sus hábitats naturales y cultivados (Meyer & Purugganan, 2013). Ambos ambientes difieren en la exposición de las plantas a diferentes niveles de estrés abióticos o bióticos como la disponibilidad de agua y/o luz (Saugier, 1983) o la presencia y abundancia de herbívoros o patógenos, respectivamente (Fritz & Simms 1992). Para maximizar el crecimiento y la reproducción en los ambientes estresantes, la plasticidad fenotípica ha evolucionado en las plantas para responder de forma adaptativa a las interacciones abióticas y bióticas (Schlichting, 1986). Una interacción sumamente importante en la evolución de las defensas de plantas es la que tienen con los herbívoros (Moreira *et al.*, 2018), pues las estructuras defensivas que las plantas desarrollaron, les confieren resistencia al evitar el daño o reducir el porcentaje de este por herbívoros, además de que disminuyen su impacto negativo sobre la sobrevivencia y la reproducción de las plantas (Kaur & Kariyat, 2020). Esto convierte a los herbívoros en un importante agente selectivo que promueve el mantenimiento y/o producción de componentes defensivos que favorecen la adecuación vegetal. Así, el daño por herbívoros ha promovido un diverso número de respuestas en las plantas, que incluye la producción constitutiva e inducida de estructuras físicas como tricomas, o espinas, así como compuestos químicos como fenoles, alcaloides o terpenos (Ruiz-Guerra *et al.*, 2020).

Las especies silvestres comúnmente presentan una gran variedad de defensas, inducidas o constitutivas, que les ayudarán a defenderse en contra de herbívoros. Sin embargo, la domesticación de ciertas plantas ha alterado dichos mecanismos y/o estrategias formados a través de años de evolución (Paudel *et al.*, 2019). La

detección de este patrón ha propuesto la hipótesis de la reducción de la defensa durante la domesticación (Moreira *et al.*, 2018), característica que se pretende incluir dentro del síndrome de domesticación. La selección consciente de características de interés (p. ej. frutos) para obtener una mayor productividad, puede afectar rasgos correlacionados no deseados, como la producción de estructuras físicas o bioquímicas, ocasionando que las plantas domesticadas sean más susceptibles al daño por herbívoros (Turcotte *et al.*, 2014). Sin embargo, en muchos casos las defensas foliares y calidad de respuesta por parte de la planta no sólo son influenciadas por la selección artificial durante el proceso de domesticación, sino también por la variación ambiental con la abundancia y/o diversidad de herbívoros (Solís-Montero *et al.*, 2020).

Epidermis

La epidermis es una capa simple de células que cubre el cuerpo de una planta. La principal función de esta es actuar como una barrera protectora en contra de factores externos (bióticos y/o abióticos) que puedan afectar al organismo, así como permitir el intercambio de recursos como agua, gases y nutrientes entre la planta y el medio ambiente (Javelle *et al.*, 2011). En las hojas, se distinguen dos tipos de epidermis, la superior (denominada superficie adaxial) y la inferior (superior abaxial), ya que entre estas se pueden presentar diferencias estructurales y funcionales muy notables (Fukushima & Hasebe, 2014).

Tres tipos de células conforman a la epidermis: pavimento, estomas y tricomas. Las células de pavimento son las más sencillas y cubren la mayor parte de la superficie foliar, protegen las capas interiores de la hoja y ayudan a la óptima

distribución de las demás células dentro de un área determinada (Javelle *et al.*, 2011; Ramsay & Glover, 2005). Los estomas son estructuras multicelulares que forman un poro (denominado ostiolo) con sus células guardianas y permiten el intercambio de gases (CO₂ y O₂) durante la fotosíntesis, así como la pérdida de agua mientras este está abierto (Haworth *et al.*, 2011; Berhin *et al.*, 2021). Los tricomas son protuberancias unicelulares o pluricelulares que esencialmente sirven para proteger a la planta en contra de herbívoros y que pueden producir ciertas sustancias (tricomas glandulares). Además ayudan a proteger al organismo contra la radiación UV y reducir la transpiración, mejorando el ahorro de agua (Kaur & Kariyat, 2020; Ramsay & Glover, 2005).

Patrones foliares de células especializadas

La epidermis es la primera línea de interacción entre el individuo y el ambiente, por lo que su respuesta ante diversos factores es crucial para el desarrollo de la planta (Javelle *et al.*, 2011). Las respuestas pueden ser a corto o largo plazo dependiendo del estímulo externo que está interactuando con la planta (Ramsay & Glover, 2005). La cantidad de estomas de una planta influye en su capacidad de regulación de evapotranspiración, así como en el intercambio de gases, por lo que las modificaciones en la densidad de sus estomas influyen directamente sobre el proceso fotosintético de la planta (Lake *et al.*, 2001). Por ejemplo, se ha visto que la apertura de los estomas es un mecanismo a corto plazo en el que la planta responde a cambios en los factores ambientales como la concentración de CO₂ o la cantidad disponible de luz (Casson *et al.*, 2009). Esto se ha observado en estudios que evalúan la respuesta estomática a cambios ambientales (Driesen *et al.*, 2020; Engineer *et al.*, 2016).

Por otro lado, para responder a largo plazo a las condiciones ambientales, las nuevas hojas de la planta presentan cambios en sus densidades de estomas. Así, un estímulo externo como la sequía incipiente puede señalar a las plantas una respuesta inmediata, pero también provocar modificaciones en tejidos que se producirán posteriormente (Bertolino *et al.*, 2019).

Los tricomas son estructuras que participan en la defensa contra herbívoros. Estos pueden obstruir el consumo por los herbívoros y minimizar el daño foliar que sufre la planta (Kaur & Kariyat, 2020). No obstante, la producción de tricomas puede significar un costo de energía, por ello, el incremento en su número se considera como una defensa inducida, ya que se realiza después de que la planta sufre daño foliar por parte de herbívoros. El aumento en la densidad de tricomas en las hojas nuevas puede disminuir la preferencia del herbívoro o bien, reducir el daño que este está ocasionando (Kariyat *et al.*, 2017; Matos *et al.*, 2009). Este tipo de comportamiento le permite a las plantas responder adecuadamente a ambientes heterogéneos de herbívoros (Traw & Dawson, 2002).

Las respuestas a estímulos externos en las plantas están reguladas por mecanismos de activación/inhibición conformados por caminos de proteínas y fitohormonas especializados (Benítez *et al.*, 2013). La inducción de daño por herbívoros en las plantas puede activar dos vías de señalización: la de ácido jasmónico (cuando el herbívoro perfora la hoja) o la de ácido salicílico (insectos succionadores o infecciones por patógenos). La activación de estas fitohormonas produce la síntesis de proteínas que le ayudarán a la planta a hacer óptimos patrones de células especializadas en su epidermis foliar (Bustos-Segura *et al.*, 2021; Benítez *et al.*, 2013).

El presente estudio busca examinar de forma experimental la capacidad de respuesta de plantas silvestres y domesticadas del género *Capsicum annuum* al daño foliar por el herbívoro *Spodoptera frugiperda* y comparar (tanto entre tratamientos, como entre variedades) si hay una diferencia significativa entre las densidades y/o tamaño de sus células especializadas posterior a un respectivo daño foliar.

1.2 Antecedentes

Inducción de defensas por herbívoros

El daño por herbívoros en las hojas de una planta presenta una combinación de daño mecánico y factores químicos que generan en las plantas la inducción de defensas (químicas y/o físicas) (Bricchi *et al.*, 2010) o una respuesta compensatoria donde la pérdida de daño foliar no tenga afectaciones (Moreira *et al.*, 2015).

Se ha probado que las secreciones orales o de las glándulas reversibles ventrales (VEG por sus siglas en inglés) de las orugas actúan como elicitores que inducen respuestas foliares (Peiffer & Felton, 2009). En el género *Spodoptera* spp se ha encontrado que, al alimentarse, las orugas producen tanto secreciones orales como VEG (Peiffer & Felton, 2009) además, se ha mostrado que las secreciones VEG de *Spodoptera* spp generan la regulación positiva de los genes que codifican para las enzimas clave en la biosíntesis de ácido jasmónico (Zebelo *et al.*, 2014). El metil jasmonato es una fitohormona volátil que actúa como regulador celular que también contribuye fuertemente en las respuestas de defensa. Para que el metil jasmonato pueda ser sintetizado es necesario la presencia de la proteína ácido jasmónico carboxil metiltransferasa (JMT por sus siglas en inglés) (Min *et al.*, 2005). El gen de

esta proteína ya ha sido aislado de *C. annuum* en un estudio por Min *et al.* (2005) y en *Arabidopsis* spp (donde la proteína fue aislada por primera vez) se ha demostrado que el metil jasmonato provoca un aumento de tricomas como respuesta de defensa ante el herbivorismo (Benitez *et al.*, 2013; Yoshida *et al.*, 2009; Traw & Bergelson, 2003).

Así, la eficacia de las respuestas de defensa de las plantas depende del tipo de herbívoro en cuestión (es decir, si es especialista o generalista) (Agrawal, 2000; Moreira *et al.*, 2013), mientras que el ambiente o los factores abióticos también tienen un papel en la presencia y abundancia de estructuras como tricomas o metabolitos secundarios (Solís-Montero *et al.*, 2020; Abdala-Roberts *et al.*, 2019).

Domesticación de *Capsicum annuum*

La especie de chile *Capsicum annuum* es una de las 5 especies del género *Capsicum* cuyo centro de domesticación y diversificación más importante es México, por lo que su valor cultural y económico es sumamente relevante en nuestro país (Kraft *et al.*, 2014). La variación fenotípica que los frutos presentan en distintas localidades por todo el país es bastante elevada y es principalmente por las diferencias en las características de los frutos que se distinguen las diferentes variedades, tanto silvestres como domesticadas (Aguilar-Meléndez *et al.*, 2009).

En particular, la domesticación ha generado en *C. annuum* un incremento en el tamaño y amplia variación en la forma del fruto (Paran & Van Der Knaap, 2007). Evidencia reciente ha demostrado que la domesticación genera variaciones en las defensas de las plantas (Aguilar-Meléndez *et al.*, 2009; Chen, Gols & Benrey, 2015; Luna-Ruiz, Nabhan & Aguilar-Meléndez, 2018).

Entre los pocos estudios que han trabajado con la epidermis y estructuras de defensas de esta especie, así como con el efecto de la domesticación, se puede mencionar el de Serrano-Mejía *et al* (2022), donde se compararon las características epidermales de 6 variedades domesticadas de chile con la de un chile silvestre, así como la resistencia de estas a herbívoros. Describieron una densidad de tricomas mayor en la variedad silvestre, así como una mayor mortalidad de *S. frugiperda* al ser alimentadas con hojas de esta variedad. En general, este trabajo concluyó que el proceso evolutivo de la domesticación en *C. annuum* produjo cambios en caracteres de defensa.

Por su parte, Valenzuela-Apodaca (2019), reportó una mortalidad del 100% de larvas de *S. frugiperda* alimentadas con la variedad silvestre *C. a. var. glabriusculum*, mientras que las larvas que fueron alimentadas con variedades domesticadas (*C. a. var. annuum*) tuvieron una supervivencia del 73.33%. A su vez, Peiro-Nuño (2021) reportó que las hembras de *S. frugiperda* tienen una aceptación nula para ovipositar en *C. annuum* (tanto en silvestres como domesticadas). Mientras que en sus análisis de alimentación reportó una mortalidad de 100% con ambas dietas (variedad silvestre y domesticada) a diferencia de lo obtenido por Valenzuela-Apodaca (2019), sin embargo, Peiro-Nuño (2021) reporta que la dieta de chile silvestre mata a las larvas de 1.95 a 2.77 veces más rápido que con la dieta de chile domesticado, concluyendo que en general las plantas de chile silvestre son más resistentes que las domesticadas.

1.3 Hipótesis

Las células especializadas en la epidermis foliar de *Capsicum annuum* presentarán un cambio significativo en sus densidades, como respuesta ante el daño causado por el herbívoro *Spodoptera frugiperda*.

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo general

- Evaluar el efecto del daño por herbívoros sobre la composición celular de la epidermis en distintas variedades de *Capsicum annuum*.

1.4.2. Objetivos específicos

1. Evaluar si existe una diferencia en la densidad de células especializadas en las hojas de plantas expuestas al daño por herbívoros.
2. Analizar si el daño foliar de herbívoros produce en todas las variedades utilizadas de Chile un aumento en la densidad de tricomas.
3. Examinar la presencia de disyuntivas entre las densidades de células especializadas en las hojas.

2. Metodología

2.1. Sistema de estudio

La especie *Capsicum annuum* (Solanaceae) es un arbusto perenne que va de 1 a 3 metros con flores estrelladas con corola blanca. Presenta una amplia diversidad morfológica en el tamaño, forma y color de sus frutos ya que es una de las especies más domesticadas en Mesoamérica (Aguilar-Meléndez *et al.*, 2009). La especie silvestre, denominada comúnmente como chiltepín (*C. annuum* var. *glabriusculum*), es una planta perenne con frutos pequeños, rojos y picantes (López-España, 2016); presenta una amplia distribución natural desde el sur de los Estados Unidos hasta Colombia (González-Jara *et al.*, 2011) y debido a las fluctuaciones en las condiciones ambientales en las que sus poblaciones se puede encontrar, *C. annuum* var. *glabriusculum* tiene una gran variación intraespecífica en diferentes rasgos morfológicos como el tamaño de hojas, su altura, el diámetro del tallo, etc; (López-España, 2016). La variedad semi domesticada (yahualica) es un fruto con denominación de origen según la NOM-239-SE-2020, cultivado principalmente en la región de los Altos del Estado de Jalisco, su fruto es alargado (hasta de 7 cm) y angosto, cuando está maduro presenta un color rojo intenso. El chile jalapeño es una variedad domesticada, cuyo fruto óptimo se describe con las medidas de 7 cm de largo por 3 cm de ancho, frutos son color verde y su nivel aproximado de capsaicina es de 1.6 mg/100g peso seco (Weisenfelder *et al.*, 1978).

La oruga *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), comúnmente conocida como gusano cogollero, tiene un ciclo de vida corto (30 días) que consta de 6 estadios larvales, pupa y adultez. Tiene una distribución cosmopolita y es considerada como una plaga para cultivos, especialmente maíz. Sin embargo,

ataca un total de 353 especies de plantas (76 familias) donde *C. annuum* se encuentra en la lista (Montezano *et al.*, 2018).

2.2. Material biológico

Para este estudio se germinaron semillas de *C. annuum* var. *glabriusculum* (accesión SPC 263) y *C. annuum* var. *annuum* (yahualica y jalapeño), obtenidos de la colección de germoplasma del laboratorio de Genética Ecológica y Evolución de la Facultad de Ciencias, UABC. Las semillas de chiltepín provenían de una colecta de San Pedro de la Cueva, Sonora. Para la variedad jalapeño, se utilizaron semillas comerciales de Vita Rancho los Molinos, S.A. de C.V.

Las larvas de *S. frugiperda* utilizadas en el tratamiento de daño foliar por herbívoros fueron proporcionadas por el insectario del Laboratorio de Genética Ecológica y Evolución (UABC).

2.3. Diseño experimental

2.3.1 Germinación y cuidado de plantas

El experimento se inició a mediados de octubre del 2021 con la siembra de las semillas de *C. annuum* var. *annuum* (yahualica y jalapeño) y *C. annuum* var. *glabriusculum*. Aproximadamente, 50 semillas de cada variedad se dejaron en remojo en agua de consumo por dos días y se colocaron en charolas de germinación con 2-3 semillas por espacio con sustrato comercial Berger BM2. Estas charolas estuvieron en un cuarto de ambiente controlado (26° C; HR: 70% y fotoperiodos

L/N:14h:10h), las semillas se regaron diariamente para que el suelo siempre estuviera húmedo hasta su germinación.

Cuando las plántulas presentaron dos hojas verdaderas bien desarrolladas, se trasplantaron a macetas individuales de 4 pulgadas a una misma altura y se fertilizaron con una solución de 3 g/L de fertilizante N-P-K, 19:19:19. Esta fertilización se mantuvo una vez por semana para mantener los nutrientes controlados hasta la aplicación del tratamiento. Las plantas se cuidaron con riego *ad libitum*.

2.3.2 Aplicación de tratamientos de daño foliar

Durante todo el experimento, las plantas se mantuvieron en el cuarto de ambiente controlado (ver condiciones arriba). Cuando presentaron más de 6 hojas bien desarrolladas, se eligieron las 16 plantas por variedad que presentaran tamaño y área foliar similar dentro de cada una de las variedades. Cuatro plantas por variedad se asignaron aleatoriamente en cada uno de los cuatro tratamientos experimentales. Se marcó la última hoja formada al momento de la aplicación de tratamiento con un alambre alrededor de pecíolo, esto con el fin de determinar con precisión en qué momento comenzaba la nueva generación de hojas de acuerdo a su posición en el tallo.

Para cada tratamiento se eligieron al azar dos hojas completamente desarrolladas de cada planta. En ellas se aplicó el respectivo daño y a cada hoja elegida se le colocó una jaula clip (*clip cage*) (ver Fig.1) formada de dos cilindros de “fomi” con una rendija cerrada con ligas, las jaulas estuvieron puestas el mismo tiempo en los 4 tratamientos. Estas jaulas eran necesarias en el daño por herbívoro

para mantener a las orugas en su hoja. Para controlar un efecto potencial del posicionamiento y precisión de la jaula sobre la planta, se colocaron jaulas en el mismo número de hojas en todas las plantas de los tratamientos.

El tratamiento de herbivorismo consistió en colocar orugas en 2do estadio de *S. frugiperda* sobre dos hojas de la planta dentro de la jaula clip y se mantuvieron ahí hasta que consumieron entre el 50-70% del área foliar de la hoja. La duración del experimento fue de aproximadamente 4 horas, tiempo que tardaron las orugas en remover el área foliar de su hoja. Para el tratamiento de daño mecánico se utilizó una perforadora de papel esterilizada con etanol al 70% para perforar las hojas. En cada una de las dos hojas se eliminó entre el 50-70% del área foliar de la hoja, posteriormente se les colocó la jaula clip sin insectos. Para el tratamiento con metil jasmonato las plantas fueron rociadas con una solución al 0.2% de agua-metil jasmonato (Sigma-Aldrich). Se seleccionaron dos hojas por planta a las que se roció la solución empleando un atomizador y a estas se les colocó la jaula. Finalmente, el tratamiento control consistió en colocar dos jaulas por planta en hojas seleccionadas sin larva de *S. frugiperda*. En todos los casos se colocaron jaulas sobre las hojas de las plantas (Fig. 2).



Figura 1. Fotografía de *clip cage*. Muestra de cómo se colocaron las *clip cage* en las plantas.



Figura 2. Fotografía de los tratamientos. Se muestran todas las plantas divididas en cuatro diferentes tipos de tratamiento.

2.3.3 Impresión de epidermis

Posterior a la aplicación de tratamiento se esperó a que creciera una nueva generación de hojas bien desarrolladas a partir de la hoja marcada con un alambre (aproximadamente cuatro semanas después de la inducción de daño). Para la

impresión de epidermis, se seleccionaron dos hojas después de la 5ta hoja nueva desarrollada.

Las impresiones de epidermis se realizaron en ambas superficies de la hoja (adaxial y abaxial), en un área entre la primera y segunda vena secundaria del lado derecho (Fig. 3) o bien, entre la segunda y tercera cuando el área era muy pequeña.

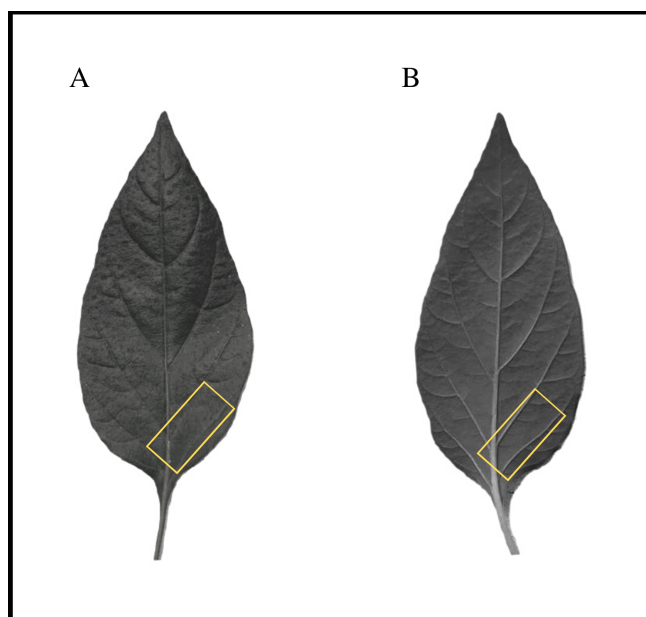


Figura 3. Fotografía de una hoja de *C. annuum* por ambas superficies: A) Adaxial. B) Abaxial. En ambas se señala con un rectángulo amarillo el área elegida para realizar las impresiones de la epidermis.

La impresión de epidermis foliar siguió el método de esmalte de uñas de Hilu & Randall (1984), con una modificación en los tiempos que estos presentaron. Brevemente, el método consistió en aplicar una pequeña cantidad de esmalte de uñas transparente directamente sobre la superficie foliar, se deja secar aproximadamente 4 minutos, posteriormente se coloca un pedazo de cinta adhesiva transparente en el área pintada, se espera un minuto y se retira el pedazo de cinta al sentido contrario de la aplicación del esmalte. La cinta con la impresión se coloca sobre un portaobjeto

que previamente fue marcado con el número de hoja y planta al que pertenece la impresión, así como la respectiva superficie epidermal.

2.3.4 Conteo de células especializadas

Las impresiones foliares realizadas se analizaron en el programa Zen2(lite) con ayuda de un microscopio de campo claro ajustado con una cámara Axiocam ICc5 (Zeiss). En este programa se obtuvieron las densidades de las células especializadas en función de las células contadas sobre el campo de visión de la cámara en su respectivo objetivo: para tricomas, objetivo de 10x (área de 2.49 mm²), mientras que para estomas y células de pavimento, objetivo a 40x (área de 0.156 mm²). Así mismo, en el objetivo de 40x también se obtuvieron las medidas de área promedio de células de pavimento. Las figuras 4 y 5 muestran las imágenes de epidermis analizadas en los objetivos 10x y 40x respectivamente y se señalan las células especializadas cuantificadas.

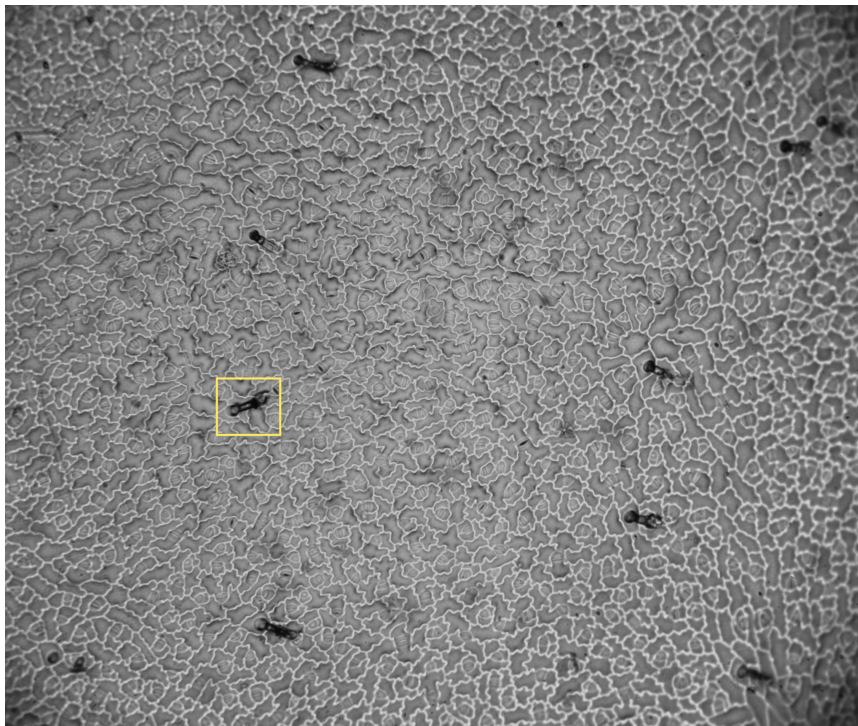


Figura 4. Micrografía de una superficie abaxial de *C. annuum* observada en el objetivo 10x. Se observan células de pavimento y tricomas glandulares, se señala un tricoma con un rectángulo amarillo.

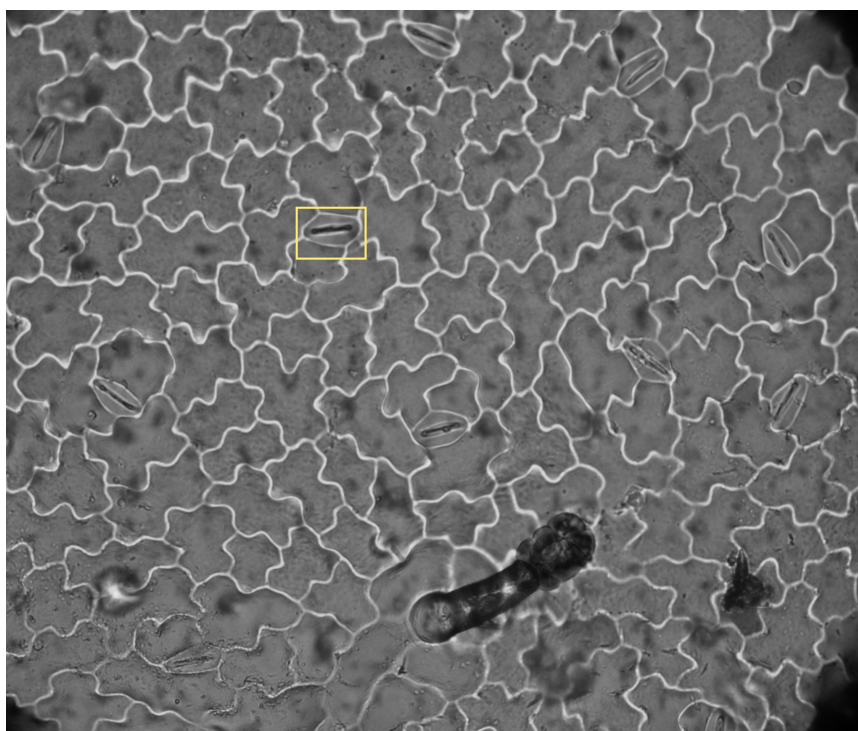


Figura 5. Micrografía de una superficie adaxial de *C. annuum* observada en el objetivo 40x. Se encuentran en su mayoría células de pavimento, estomas (uno señalado con un rectángulo amarillo) y un tricoma glandular.

2.3.5 Análisis estadísticos

Para analizar el efecto sobre el fenotipo epidermal de los diferentes tratamientos, así como las diferencias de respuesta por variedad, se llevaron a cabo análisis de varianza (ANOVA) de dos vías para cada de una de las medidas realizadas tanto en superficie superior como inferior: I) número de células de pavimento, II) número de estomas, III) número de tricomas, IV) área de células de pavimento. Es decir, 8 pruebas en total. Además, se realizaron 3 pruebas ANOVA de una vía para cada variedad en la medida densidad de tricomas abaxial para identificar diferencias entre los tratamientos. Para determinar las diferencias entre las fuentes de variación con diferencia significativa según la prueba ANOVA, se realizaron pruebas *Post Hoc*. A partir de los resultados en estas pruebas se determinó si había diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos de cada variedad y si dicha respuesta es común entre las variedades o es autónoma. Sólo se graficaron aquellos resultados que fueron significativos.

Las correlaciones entre las densidades de células especializadas en la especie *C. annuum* se examinó por medio de análisis de correlación Spearman y se realizó una matriz de correlaciones con los valores obtenidos en cada superficie foliar entre los tres tipos de células especializadas.

Todos los análisis estadísticos y gráficas se realizaron utilizando el software estadístico R.

3. Resultados

Respuesta ante tratamientos

La respuesta de las plantas de *Capsicum annuum* a los tratamientos de inducción fue moderada. Los diferentes tipos de tratamiento foliar sólo mostraron diferencias significativas en la densidad de tricomas tanto en la superficie adaxial como abaxial (Fig. 4; Cuadro I). El grupo control tuvo una densidad promedio de tricomas adaxiales de 1.5 y de 6.5 en la superficie abaxial. Respecto al control, los tratamientos de jasmonato y daño mecánico incrementaron las densidades promedio de tricomas en ambas superficies (jasmonato 8.6% más tricomas en la superficie adaxial y 34.61% más en la abaxial; daño mecánico 61.33% más tricomas adaxiales y 2.61% más tricomas abaxiales). En relación al control el tratamiento de herbivorismo tuvo un aumento de tricomas del 34.61% en la superficie abaxial y en la adaxial una disminución del 25% en su densidad de tricomas. Sin embargo, las pruebas *Post Hoc* detectaron sólo diferencias significativas entre los tratamientos de daño mecánico y herbivorismo en la superficie superior ($P=0.03$, cuadro II) y, en la superficie inferior, entre la densidad de tricomas promedio de los tratamientos control y jasmonato ($P=0.05$, cuadro II).

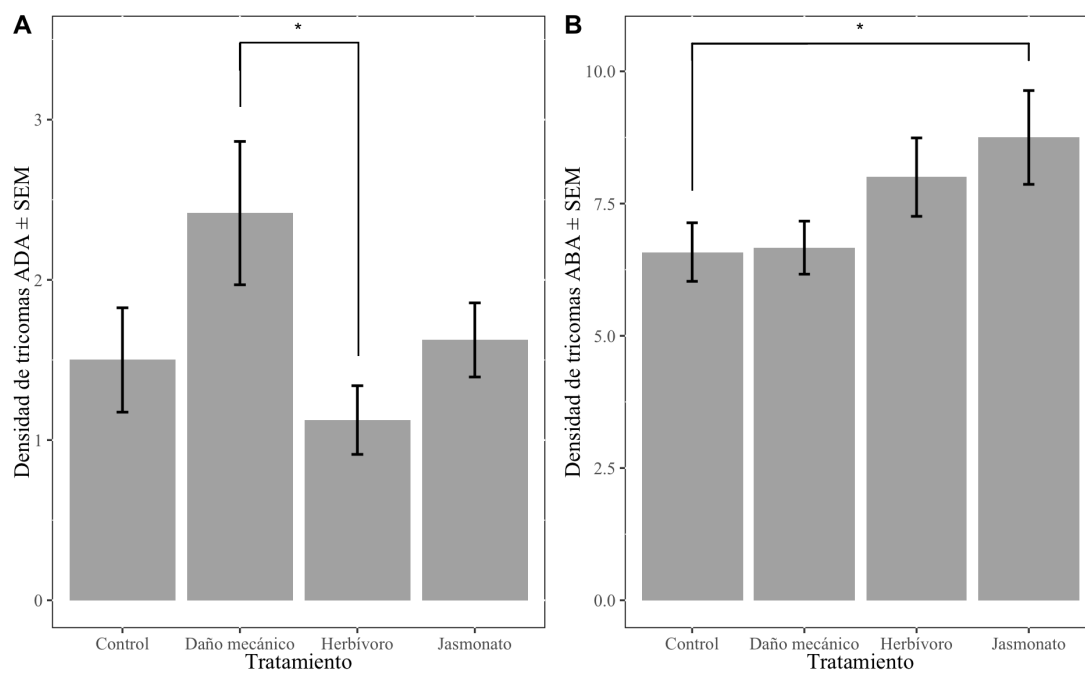


Figura 6. Variación en la densidad promedio de tricomas ($\pm 1EE$) entre los tratamientos. A) Densidad de tricomas superficie adaxial (diferencia significativa entre daño mecánico y herbívoro $p = 0.0265$). **B)** Densidad de tricomas superficie abaxial (diferencia significativa entre control y jasmonato según $P=0.05$). El asterisco indica una diferencia significativa entre grupos según su valor de $P < 0.05$.

Cuadro I. Valores obtenidos en las pruebas ANOVA de dos vías realizadas para cada variable medida en ambas superficies. Las negritas indican valores de p significativos.

Carácter	Superficie foliar	Fuente de variación	G. L.	C. M.	F	P
Células de pavimento	Adaxial	Variedad	2	4417	9.985	0.0004
		Tratamiento	3	222	0.502	0.683
		Variedad x Tratamiento	6	348	0.787	0.586
	Abaxial	Variedad	2	2715	5.063	0.012
		Tratamiento	3	641	1.195	0.325
		Variedad x Tratamiento	6	314.8	0.587	0.738
Tricomas	Adaxial	Variedad	2	4.646	4.067	0.03
		Tratamiento	3	3.542	3.1	0.04
		Variedad x Tratamiento	6	0.521	0.456	0.836
	Abaxial	Variedad	2	15.797	3.902	0.03
		Tratamiento	3	13.389	3.307	0.03
		Variedad x Tratamiento	6	12.082	2.984	0.02
Estomas	Adaxial	Variedad	2	126.58	48.574	5.96 x10⁻¹¹
		Tratamiento	3	1.42	0.546	0.654
		Variedad x Tratamiento	6	3.89	1.493	0.208
	Abaxial	Variedad	2	699.3	25.021	1.54 x10⁻⁷
		Tratamiento	3	17.4	0.623	0.605
		Variedad x Tratamiento	6	11.1	0.397	0.876

Cuadro II. Valores significativos obtenidos en las pruebas *Post Hoc* de Tukey, a partir de los valores significativos de las pruebas ANOVA del cuadro I. Las negritas indican valores de p significativos.

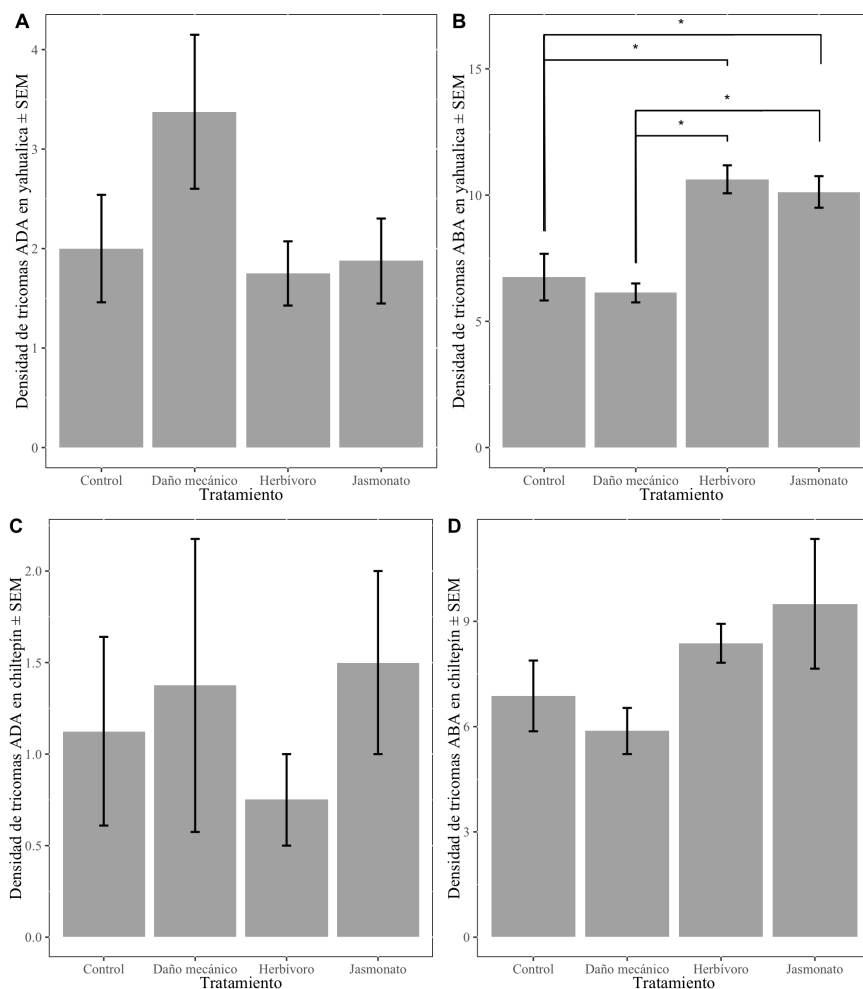
Carácter	Superficie foliar	Fuente de variación	P
Células de pavimento	Adaxial	Yahualica- Chiltepin	0.0004
		Yahualica- Jalapeño	0.008
	Abaxial	Yahualica- Chiltepin	0.03
		Yahualica- Jalapeño	0.02
Tricomas	Adaxial	Yahualica- Chiltepin	0.02
		Herbívoro-Daño mecánico	0.03
	Abaxial	Yahualica- Jalapeño	0.02
		Jasmonato- Control	0.05
		Yahualica: Herb- Jalapeño: Herb	0.02
		Yahualica: Jasmonato-Jalapeño: Herb	0.04
Estomas	Adaxial	Chiltepin- Jalapeño	0.0008
		Yahualica- Chiltepin	0
		Yahualica- Jalapeño	0.000003
	Abaxial	Yahualica- Chiltepin	0.0000009
		Yahualica- Jalapeño	0.000002

Efecto de tratamiento experimentales por variedad

En chiltepín, el promedio de densidades de tricomas en el grupo control fue de 1.125 (superficie adaxial) y de 6.875 (superficie abaxial). Jalapeño tuvo un promedio de 1.375 tricomas en la superficie superior y de 6.125 en la superficie inferior, mientras que en yahualica los promedios fueron 2 y 6.75, respectivamente. Las densidades de tricomas en jasmonato aumentaron en todas las variedades (chiltepín +33% adaxial y +38.18% abaxial; jalapeño +9.09% y +8.163% respectivamente y yahualica +50% de tricomas en la superficie abaxial), únicamente la superficie adaxial en la variedad yahualica mostró una densidad de tricomas menor respecto al de su control (-6.25%). En el tratamiento de herbivorismo se mostró una tendencia por disminuir la densidad de tricomas en la superficie adaxial y aumentar esta en la abaxial, a excepción de la variedad jalapeño que mostró menos tricomas en ambas superficies (chiltepín 33.34% menos tricomas en la superficie adaxial y 21.81% más tricomas en la superficie abaxial; yahualica -12.5% tricomas adaxiales y +57.4% tricomas abaxiales; jalapeño -36.37% y -18.37% en superficies superior e inferior respectivamente). Finalmente, en el tratamiento de daño mecánico se mostraron las siguientes respuestas: chiltepín incrementó su densidad de tricomas adaxiales un 22.22% y la redujo 14.55% en la superficie abaxial. La variedad yahualica aumentó los tricomas en un 68.75% en la superficie superior y en la inferior disminuyó un 9.26%, mientras que en la variedad jalapeño las densidades de tricomas mostraron un porcentaje mayor en ambas superficies respecto al control (81.81% más tricomas adaxiales y 30.61% más tricomas abaxiales).

Para observar si había diferencias significativas entre las densidades de tricomas de las variedades por tratamiento, se hicieron pruebas ANOVA de una vía

para cada una de ellas. Los valores de las pruebas en las variedades de chiltepin y jalapeño no fueron significativos para ninguna de las superficies foliares, mientras que en la variedad yahualica sólo hubo diferencias significativas en la superficie abaxial ($p = 0.0005$, cuadro III). Los tratamientos significativamente diferentes en yahualica según la prueba *Post Hoc* Tukey fueron control y herbivorismo ($p=0.006$), control y jasmonato ($p=0.015$), daño mecánico y jasmonato ($p=0.005$) y daño mecánico y herbivorismo ($p=0.002$). La figura 5 muestra las gráficas de barras de las diferentes variedades con los promedios totales de tricomas en cada tratamiento por superficie.



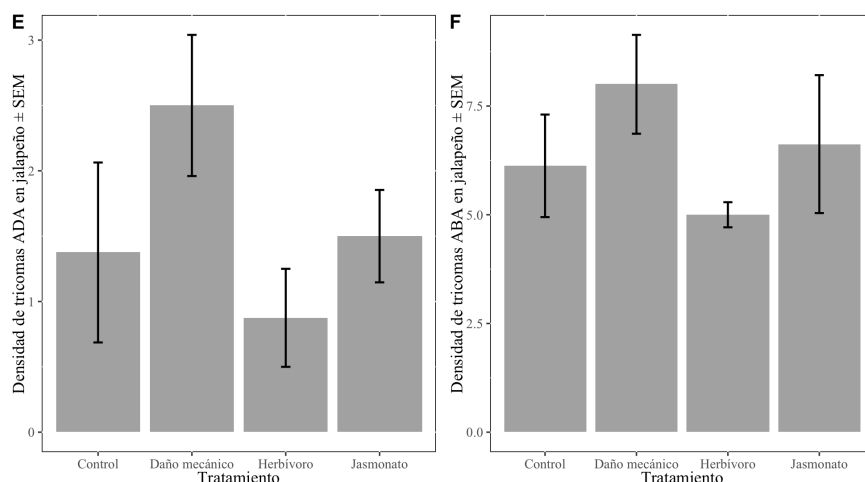


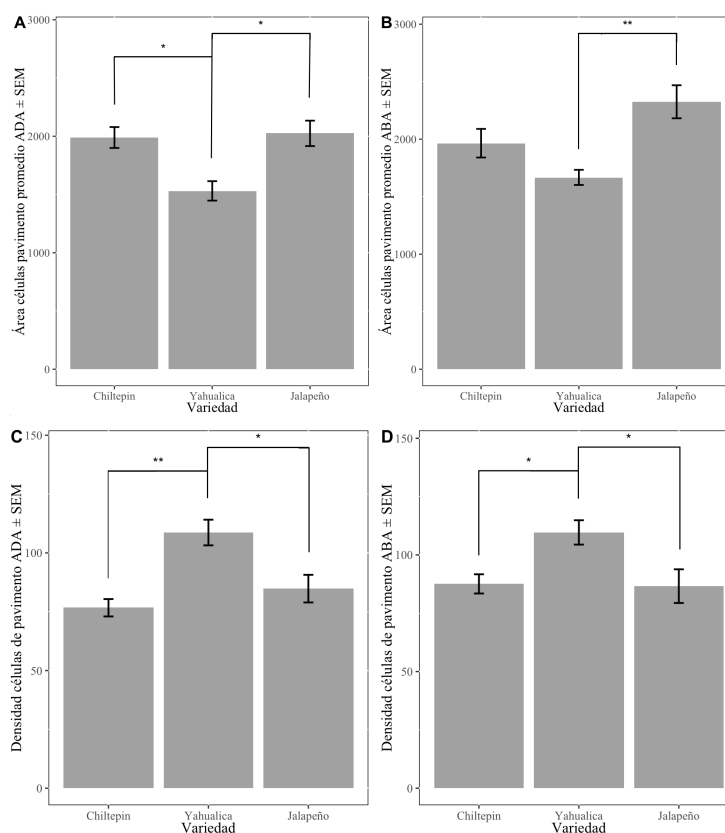
Fig. 7. Variación en la densidad promedio de tricomas ($\pm 1EE$) por variedades en ambas superficies entre tratamientos. A) Densidad de tricomas en superficie adaxial en yahualica. B) Densidad de tricomas en superficie abaxial en yahualica (diferencias significativas entre control y herbívoro según $p=0.00572$; control y jasmonato $p=0.01473$; daño mecánico y herbívoro según $p=0.00181$; daño mecánico y jasmonato según $p=0.00453$). C) Densidad de tricomas en superficie adaxial en chiltepín. D) Densidad de tricomas en superficie abaxial en chiltepín. E) Densidad de tricomas en superficie adaxial en jalapeño. F) Densidad de tricomas en superficie abaxial jalapeño. Los asteriscos indican una diferencia significativa entre grupos según su valor de P (** <0.0001 , ** <0.001 , * <0.05).

Cuadro III. Valores obtenidos en las pruebas ANOVA de una vía realizadas para comparar los tratamientos en cada variedad en la medida de densidad de tricomas en ambas superficies. En negritas valores de p significativos.

Carácter	Superficie foliar	Fuente de variación	G. L.	C. M.	F	P
Tricomas yahualica	Adaxial	Tratamiento	3	2.292	1.947	0.176
	Abaxial	Tratamiento	3	21.099	12.46	0.000536
Tricomas chiltepín	Adaxial	Tratamiento	3	0.4375	0.359	0.784
	Abaxial	Tratamiento	3	10.266	1.985	0.17
Tricomas jalapeño	Adaxial	Tratamiento	3	1.854	1.798	0.201
	Abaxial	Tratamiento	3	6.187	1.172	0.361

Diferencia entre variedades

Las variedades mostraron diferencias significativas en todas las medidas en ambas superficies (Fig. 6; Cuadro I). En particular, la variedad yahuallica (semi domesticada) difirió significativamente de las otras dos en la mayoría de los parámetros (área de células de pavimento adaxial, densidad células pavimento y densidad de estomas, ambas en las superficies adaxial y abaxial). La variedad domesticada (jalapeño) y la silvestre (chiltepin) sólo difirieron significativamente en la densidad de estomas adaxial (Fig. 6G). En la medida de densidad de tricomas, las variedades yahuallica y chiltepin fueron las únicas diferentes significativamente en la superficie superior (Fig. 6E), mientras que en la superficie inferior sólo se diferenciaron las variedades yahuallica y jalapeño (Fig. 6F).



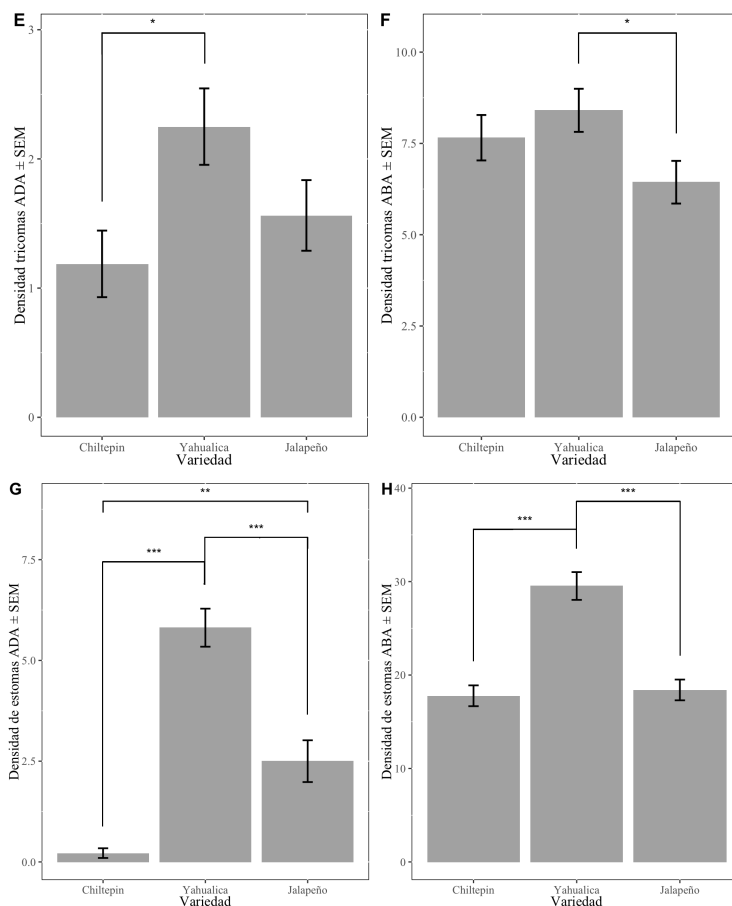


Figura 8. Variación en los promedios de las medidas ($\pm 1EE$) de las células especializadas entre variedades. A) Área promedio células de pavimento adaxial. B) Área promedio células de pavimento abaxial. C) Densidad células pavimento adaxial. D) Densidad células pavimento abaxial. E) Densidad tricomas adaxial. F) Densidad tricomas abaxial. G) Densidad de estomas adaxial. F) Densidad de estomas abaxial. Los asteriscos indican una diferencia significativa entre grupos según su valor de P (***) <0.0001 , ** <0.001 , * <0.05).

La interacción variedad con tratamiento fue significativa para la densidad de tricomas en la superficie abaxial (cuadro I). Las variedades respondieron de forma heterogénea a los tratamientos de daño; por ejemplo, la variedad jalapeño incrementó el número de tricomas en daño mecánico en relación al control mientras que chiltepin y yahualica se mantuvieron dentro del mismo rango. Así mismo, en el tratamiento de daño por herbívoro, se nota una tendencia por aumentar la densidad de tricomas por

parte de las plantas silvestres y semi domesticadas, mientras que en jalapeño se observa una clara disminución de esta medida. La prueba *Post Hoc* indicó diferencias entre los grupos yahualica:herbívoro - jalapeño:herbívoro ($P = 0.015$, cuadro II) así como yahualica-jasmonato y jalapeño-herbívoro ($P = 0.04$, cuadro II). La figura 7 muestra un gráfico con la interacción entre las tres variedades en los cuatro tratamientos.

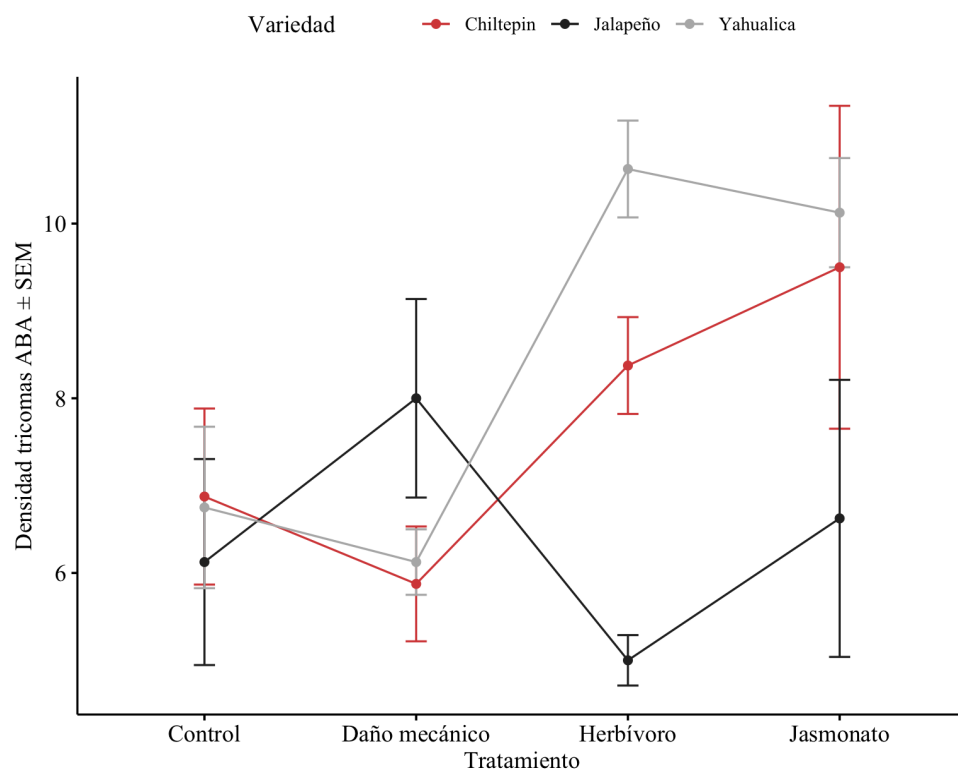


Figura 9. Variación del promedio de la densidad de tricomas ($\pm 1EE$) abaxial de las variedades en cada tratamiento. La prueba *Post Hoc* muestra diferencias significativas entre los grupos yahualica-herbívoro y jalapeño-herbívoro ($p = 0.015$), así como yahualica-jasmonato y jalapeño herbívoro ($p = 0.04$).

Correlación entre tipos de células especializadas

Las correlaciones Spearman para las distintas células especializadas de *Capsicum annuum* en ambas superficies fueron en su mayoría positivas. Únicamente la correlación entre tricomas y estomas en la superficie adaxial no fue estadísticamente significativa (Cuadro IV).

Cuadro IV. Matriz con valores de correlación según prueba Spearman entre las densidades de las células especializadas en ambas superficies. Las negritas indican valores de p significativos.

Adaxial Abaxial	Tricomas	Estomas	Células de pavimento
Tricomas		0.23	0.43
Estomas	0.46		0.49
Células de pavimento	0.46	0.89	

4. Discusión

La domesticación es un proceso de selección de caracteres de interés humano que puede afectar la expresión fenotípica de las plantas y sus interacciones ecológicas (Milla *et al.*, 2015). Se han realizado estudios bien documentados en algunas especies de plantas, entre los que se encuentra el maíz, el algodón, el tomate, la chaya (Ding & Chen, 2018; Solís-Montero *et al.*, 2020). Sin embargo, sólo unos pocos han estudiado con detalle el impacto de la domesticación en rasgos funcionales y sus consecuencias ecológicas entre plantas silvestres y domesticadas en plantas del género *Capsicum* (Serrano-Mejía *et al.*, 2022). La epidermis de las plantas, en particular, es uno de esos rasgos donde se ha puesto poca atención, es por esto que el objetivo general de este estudio fue evaluar el efecto del daño por herbívoros sobre la composición celular de la epidermis en una variedad silvestre y dos variedades cultivadas de *Capsicum annuum*, ya que la epidermis es de suma relevancia en la ecología funcional de las plantas debido a su papel preponderante en la evapotranspiración y el intercambio de gases (relevantes para la fijación de carbono), así como en la defensa contra herbívoros.

En general, los resultados muestran diferencias constitutivas entre variedades indicando divergencia en los tipos celulares. Dicha diferenciación se observa en ambas superficies tanto en las células estomáticas como en las de pavimento y no presenta cambios en sus densidades en los diferentes tratamientos, sugiriendo que independientemente de la superficie en la que se encuentren, el daño foliar no afecta estos tipos celulares. Otros estudios en el complejo silvestre-domesticado *Capsicum annuum* han mostrado resultados similares. Mejía-Serrano examinó siete variedades silvestres y una domesticada, donde encontró que ambas superficies de las hojas

difieren entre variedades, apoyando la idea de la divergencia relacionada con la domesticación, además, encontró que la magnitud de las diferencias es mayor entre las densidades celulares de la superficie abaxial (Mejía-Serrano *et al.*, 2022).

De los tres tipos de células epidermales foliares, *tricomas*, *pavimento* y *estomáticas*, los tricomas fueron el único tipo celular que mostró cambios por parte de la variedad semi domesticada y domesticada en el tratamiento herbivorismo. La densidad de tricomas difiere de entre las poblaciones y también entre tratamientos, indicando que la perturbación por el daño sí altera la producción de tricomas en la superficie foliar abaxial e indicando que la domesticación sí influye en la respuesta de las plantas. Pero además es notable que esta respuesta difiere entre especies, particularmente se observa que el tratamiento de daño por *Spodoptera frugiperda* afecta de forma particular la densidad de tricomas de cada una de las diferentes variedades.

La respuesta de las plantas al tratamiento de herbivorismo es muy compleja. La densidad de tricomas de la planta silvestre no difirió de tratamiento control, mientras que en las plantas domesticadas la respuesta es opuesta; las plantas de yahualica incrementan significativamente, y en la variedad jalapeño la densidad se reduce una vez que recibió daño. El que el chiltepín no haya presentado cambios significativos en la densidad de tricomas en los distintos tratamientos, podría mostrar la tolerancia de esta variedad silvestre a los herbívoros con sus defensas constitutivas. Esto es apoyado por González-Vera (2019) analizó las densidades de tricomas así como las respuestas de defensas inducidas de 31 líneas maternas de chile silvestre (*C. annuum* var. *glabriusculum*), donde encontró que las plantas silvestres de chile poseen variación genética en la producción de tricomas foliares y que

aquellas variedades pertenecientes al noroeste del país tienden a presentar un nivel mayor de defensas constitutivas por la mayor presión selectiva por parte de herbívoros o condiciones ambientales al que se enfrentan las variedades del norte. Si bien se puede considerar que la densidad de tricomas constitutiva en la especie silvestre no son lo suficientemente efectivas para defenderse de los herbívoros, la variación observada en las diferencias observadas en la tasa de consumo (Bello-Bedoy *et al.*, en prep) y en la respuesta de las poblaciones entre plantas silvestres sugiere que hay poblaciones donde las plantas pueden presentar plasticidad en los tricomas con respuesta al daño foliar con respecto al daño u otro factor.

La variedad domesticada (jalapeño) no presentó diferencias significativas entre los tratamientos, aunque muestra una baja densidad de tricomas respecto a las otras dos variedades, así como una diferencia significativa en su densidad de tricomas en el tratamiento herbívoro en comparación a la densidad de tricomas mostrada por su contraparte domesticada de yahualica.

La hipótesis de la domesticación en las plantas predice que la domesticación reduce las defensas de las plantas contra herbívoros (Hernández-Cumplido *et al.*, 2018; Serrano-Mejía *et al.*, 2022; Gaillard *et al.*, 2018). Sin embargo la evidencia empírica muestra que aunque la domesticación sí tiende en general a reducir la resistencia de las plantas, sus efectos sobre metabolitos secundarios y/o barreras físicas no son consistentes (Whitehead *et al.*, 2017). Los tricomas son un componente de la resistencia contra herbívoros, ya que obstruyen el consumo por larvas de diversos insectos (Kariyat *et al.*, 2017). Por ello, se esperaba que la densidad de tricomas constitutivos e inducidos sea menor en plantas domesticadas. Los resultados

obtenidos en este experimento no apoyan por completo esta hipótesis. Por un lado, la densidad promedio observada en las plantas control es muy similar indicando que no hay diferencias en la producción promedio entre plantas silvestres y domesticadas. Por otro lado, aunque sí se observa una clara disminución en la inducción de tricomas presentada por jalapeño, también se observa un incremento en la respuesta de yahualica (variedad semi domesticada), indicando que las plantas que evolucionaron bajo domesticación son más lábiles en presencia de daño por herbívoros.

La domesticación sobre la densidad de tricomas en el sistema *Capsicum annuum* no siempre la reducirá (Serrano-Mejía *et al.*, 2022). Serrano-Mejía *et al.* (2022) comparó el efecto de la domesticación de *C. annuum* en sus caracteres estructurales de epidermis, reportando variación en la densidad de tricomas entre las variedades, donde no siempre la silvestre presenta un mayor número de tricomas, cuestionando la validez de una de las predicciones de la hipótesis de la domesticación sobre la defensa. Tanto en ese trabajo como en el presente indican que la domesticación no siempre reducirá las defensas de las plantas, ya que al ser una característica que no es seleccionada directamente sí puede sufrir cambios, pero estos no siempre serán negativos, también pueden ser positivos.

El incremento en la densidad de tricomas abaxial (superficie inferior) en respuesta a la adición de jasmonato en relación con las plantas asperjadas con la hormona, demuestra que la fitohormona metil jasmonato es un promotor de la formación de tricomas en la epidermis, incrementando estos en *C. annuum*. A pesar de que no hay estudios específicos sobre la inducción de los tricomas vía jasmonato en *C. annuum*, otros estudios han encontrado resultados similares, apoyando la idea

de que el jasmonato tiene un papel determinante en la respuesta de la defensa inducida contra herbívoros. Por ejemplo, Traw & Bergelson (2003) encontraron que las densidades de tricomas en *Arabidopsis* sp aumentaban después de la aplicación de metil jasmonato, el mismo resultado mostró el experimento de Boughton *et al.* (2005) sólo que en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*). Por su parte, Bustos-Segura *et al.* (2021) encontraron que las plantas silvestres de frijoles de lima (*Phaseolus lunatus*) que habían sufrido ataque de escarabajos herbívoros, tenían una respuesta similar en diferentes características foliares respecto a las plantas rociadas con metil jasmonato, llegando a la conclusión de que la respuesta de defensa de esta especie vegetal era regulada por el jasmonato.

Un aspecto interesante es la heterogeneidad en la respuesta de las plantas al daño por herbívoros. En este estudio, sólo la variedad yahualica mostró un incremento en la densidad de los tricomas de la cara abaxial en los tratamientos herbivorismo y jasmonato en la superficie abaxial (Fig. 5B). No se encontraron respuestas entre las variedades jalapeño y silvestre con respecto al control y daño mecánico lo que sugiere dos cosas: en primer lugar, que la domesticación ha influido de forma diferente sobre la respuesta de las plantas al daño por *S. frugiperda* o por otros herbívoros. El meta-análisis realizado por Whitehead *et al.* (2017) sobre los efectos de la domesticación obtuvo que no todos los caracteres se reducirán con la domesticación, ya que algunos aumentan en su valor debido a ella; esto se observa en este estudio ya que mientras yahualica incrementa su densidad de tricomas, jalapeño los disminuye y la variedad silvestre queda entre estos dos.

En segundo lugar, la variación en los resultados apoya la idea de que las secreciones salivares de las orugas activan la vía de ácido jasmónico. En algunos estudios se ha encontrado que la respuesta de las plantas es suprimida por el contenido de microbios en la saliva, logrando que la planta no identifique como amenaza a una oruga, sino a un agente patógeno, activando otra vía de defensa que no tendrá efecto en el herbívoro en cuestión (Felton *et al.*, 2014), así mismo, otro estudio realizado por Acevedo *et al.* (2017) analizó y aisló la microbiota de *S. frugiperda* y comparó el efecto de dichas bacterias con la expresión de proteínas de defensa del tomate, encontraron que las diferentes bacterias podían suprimir o activar ciertas proteínas. Lo encontrado en estos estudios nos habla de que la domesticación no es la única variante en la respuesta de inducción de defensa que generan los herbívoros, sino que otros componentes pueden afectar esta respuesta como la saliva y sus microorganismos asociados.

Sin embargo, una limitante de este estudio es la amplitud de la varianza de los tratamientos que no permite distinguir si la tendencia de los tratamientos es estadísticamente relevante. Por ello, la inferencia de que las orugas utilizadas activan la síntesis de dicha fitohormona no puede ser aceptada a nivel especie, sólo en la variedad yahualica. Una repetición de experimento con más réplicas de las variedades podría reducir la variación y determinar si la respuesta en las variedades silvestre y domesticada es similar o igual a la de la semi domesticada.

Finalmente, se sabe que las superficies foliares de las plantas están divididas desde un nivel morfogénético, pues la diferenciación entre estas dos comienza desde su ubicación respecto al meristemo apical del tallo (SAM por sus siglas en inglés) al

inicio de su desarrollo, la cara adaxial es la más cercana al SAM, mientras que la abaxial es la cara alejada a este. Así mismo, ambas se diferencian ya que presentan diferentes redes de genes reguladores (Fukushima & Hasebe, 2014). Los resultados en este estudio muestran esa independencia de respuesta de las superficies con la diferencia entre las densidades de las células en ambas caras de la hoja, además, los resultados de las correlaciones de las diferentes densidades de células especializadas en ambas superficies foliares son diferentes, mostrando que mientras en la cara superior no hay una correlación entre tricomas y estomas, en la cara abaxial sí hay una correlación significativa entre estos.

Respecto a las correlaciones de las densidades, la hipótesis de este trabajo es que habría una disyuntiva entre el número de estomas respecto al aumento de los tricomas, mostrando que un efecto indirecto del herbivorismo es la reducción de fijación de carbono. A diferencia de lo que se esperaba, la correlación entre las densidades de las células especializadas resultó ser positiva para la mayoría de los casos a excepción de la relación entre la densidad de tricomas y estomas en la superficie superior, que tuvo un valor no significativo (ver cuadro IV). Esto indica que el incremento de la densidad ocurre de forma concertada aunque estudios previos no han analizado explícitamente la ocurrencia de un *trade-off* entre la densidad de tricomas y células estomáticas en respuesta al daño foliar hay uno donde se presenta una correlación positiva entre la razón de tricomas y estomas en condiciones de estrés hídrico en tomate (Galdon-Armeno *et al.*, 2018). Esto podría apoyar la idea de que las células especializadas están relacionadas entre las redes de genes reguladores encargadas de formar los patrones de las epidermis en cada superficie foliar (Fukushima & Hasebe, 2014; Benitez *et al.*, 2013).

5. Conclusiones

El presente estudio mostró que la respuesta a perturbaciones ambientales, como el daño por herbívoro, puede variar entre las diferentes superficies foliares y esta diferencia puede ser a causa del síndrome de domesticación.

Otro hallazgo fue la demostración de que la especie *Capsicum annuum* es capaz de sintetizar la hormona metil jasmonato para aumentar la producción de tricomas. Sin embargo, más réplicas deben realizarse con herbívoros para determinar si la planta es capaz de sintetizar esta hormona a partir del daño foliar por herbívoro. Así mismo, estructuralmente hablando, el herbivorismo no tiene un efecto indirecto en la producción de estomas, pues al aumentar la cantidad de tricomas también tiene como resultado un aumento en las densidades de los estomas y/o células de pavimento (a excepción de la relación estoma/tricoma en la superficie adaxial), esto probablemente porque son reguladas por los mismos genes en cada superficie. Sin embargo, estudios evaluando la evapotranspiración de las hojas de las plantas podrían realizarse para evaluar la eficacia de estos posterior a un daño por herbívoro.

Finalmente, este trabajo no apoya completamente la hipótesis de que la domesticación en plantas siempre tenderá a presentar una disminución en las defensas foliares de las plantas. Es necesario hacer un estudio que incluya un número alto de variedades y determinar si existen patrones dentro de los linajes cultivados que permitan entender cuando la domesticación impacta rasgos implicados en defensa o evapotranspiración.

6. Literatura citada

- Abdala-Roberts L., Puentes A., Finke D. L., Marquis R. J., Montserrat M., Poelman E. H., Rasmann S., Sentis A., van Dam N. M., Wimp G., Mooney K. & Björkman, C. (2019). Tri-trophic interactions: bridging species, communities and ecosystems. *Ecology letters*, 22(12):2151-2167.
- Acevedo F. E., Peiffer M., Tan C. W., Stanley B. A., Stanley A., Wang J., Jones A. G., Hoover K., Rosa C., Luthe D. & Felton, G. (2017). Fall armyworm-associated gut bacteria modulate plant defense responses. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 30(2):127-137.
- Agrawal A.A. (2000). Specificity of induced resistance in wild radish: Causes and consequences for two specialist and two generalist caterpillars. *Oikos*, 89(3):493–500.
- Aguilar-Meléndez A., Morrell P. L., Roose M. L. & Kim S. C. (2009). Genetic diversity and structure in semiwild and domesticated chiles (*Capsicum annum*; Solanaceae) from Mexico. *American Journal of Botany*, 96(6):1190-1202.
- Benítez M., Azpeitia E. & Alvarez-Buylla E. R. (2013). Dynamic models of epidermal patterning as an approach to plant eco-evo-devo. *Current Opinion in Plant Biology*, 16(1):11–18.
- Berhin A., Nawrath C. & Hachez C. (2022). Subtle interplay between trichome development and cuticle formation in plants. *New Phytologist*, 233(5):2036-2046.
- Bertolino L. T., Caine R. S. & Gray J. E. (2019). Impact of stomatal density and morphology on water-use efficiency in a changing world. *Frontiers in plant science*, 10(225).
- Bricchi I., Leitner M., Foti M., Mithöfer A., Boland W. & Maffei M.E. (2010). Robotic mechanical wounding (MecWorm) versus herbivore-induced responses: Early signaling and volatile emission in Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.). *Planta*, 232:719–729.
- Boughton A.J., Hoover K. & Felton G.W. (2005). Methyl jasmonate application induces increased densities of glandular trichomes on tomato, *Lycopersicon esculentum*. *Journal of Chemical Ecology*, 31:2211–221.
- Bustos-Segura C., Hernández-Cumplido J., Traine J. & Benrey B. (2021). Herbivory and jasmonate treatment affect reproductive traits in wild Lima bean, but

- without transgenerational effects. *American Journal of Botany*, *108*(10):2096-2104.
- Casson S.A., Franklin K.A., Gray J.E., Grierson C.S., Whitelam G.C. & Hetherington A.M. (2009). Phytochrome B and PIF4 Regulate Stomatal Development in Response to Light Quantity. *Current Biology*, *19*(3):229–234.
- Chen Y. H., Gols R. & Benrey B. (2015). Crop domestication and its impact on naturally selected trophic interactions. *Annual Review of Entomology*, *60*:35-58.
- Ding M. & Chen Z. J. (2018). Epigenetic perspectives on the evolution and domestication of polyploid plant and crops. *Current opinion in plant biology*, *42*:37-48.
- Driesen E., Van den Ende W., De Proft M. & Saeys W. (2020). Influence of environmental factors light, CO₂, temperature, and relative humidity on stomatal opening and development: A review. *Agronomy*, *10*(12): 1975.
- Engineer C. B., Hashimoto-Sugimoto M., Negi J., Israelsson-Nordström M., Azoulay-Shemer T., Rappel W. J. & Schroeder J. I. (2016). CO₂ sensing and CO₂ regulation of stomatal conductance: advances and open questions. *Trends in Plant Science*, *21*(1), 16-30.
- Felton G. W., Chung S. H., Hernandez M. G. E., Louis J., Peiffer M. & Tian D. (2014). Herbivore oral secretions are the first line of protection against plant-induced defenses. *Annual Plant Reviews: Insect-Plant Interactions*, *47*:37-76.
- Fritz R. S. & Simms E. L. (1992). Ecological Genetics of Plant-Phytophage. En Fritz R. S. & Simms E. L. (Eds.). *Plant Resistance to Herbivores and Pathogens: Ecology, Evolution, and Genetics* (pp. 1-9). The University of Chicago.
- Fukushima K. & Hasebe M. (2014). Adaxial–abaxial polarity: the developmental basis of leaf shape diversity. *Genesis: The Journal of Genetics and Development*, *52*(1):1-18
- Gaillard M.D.P., Glauser G., Robert C.A.M. & Turlings T.C.J. (2018). Fine-tuning the ‘plant domestication-reduced defense’ hypothesis: specialist vs generalist herbivores. *New Phytologist*, *217*(1):355–366.
- Galdon-Armero J., Fullana-Pericas M., Mulet P.A., Conesa M.A., Martin C. & Galmes J. (2018). The ratio of trichomes to stomata is associated with water

- use efficiency in *Solanum lycopersicum* (tomato). *Plant Journal*, 96(3):607–619.
- González-Jara P., Moreno-Letelier A., Fraile A., Piñero D. & García-Arenal F. (2011). Impact of human management on the genetic variation of wild pepper, *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*. *PLoS one*, 6(12), e28715.
- González-Vera C.G. (2019). Variación genética en la concentración de fenoles totales y densidad de tricomas asociados a la defensa en chile silvestre *Capsicum annuum* var. *glabriusculum* [Tesis de maestría, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada]. <http://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1007/3014>
- Haworth M., Elliott-Kingston C. & McElwain J.C. (2011). Stomatal control as a driver of plant evolution. *Journal of Experimental Botany*, 62(8):2419–2423.
- Hernandez-Cumplido J., Giusti M.M., Zhou Y., Kyryczenko-Roth V., Chen Y.H. & Rodriguez-Saona C. (2018). Testing the ‘plant domestication-reduced defense’ hypothesis in blueberries: the role of herbivore identity. *Arthropod-Plant Interactions*, 12:483–493.
- Hilu K. W. & Randall J. L. (1984). Convenient method for studying grass leaf epidermis. *Taxon*, 33(3), 413-415.
- Javelle M., Vernoud V., Rogowsky P.M. & Ingram G.C. (2011). Epidermis: The formation and functions of a fundamental plant tissue. *New Phytologist*, 189(1):17–39.
- Kariyat R., Smith J. D., Stephenson A. G., De Moraes C. M. & Mescher M. C. (2017). Non-glandular trichomes of *Solanum carolinense* deter feeding by *Manduca sexta* caterpillars and cause damage to the gut peritrophic matrix. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 284(1849), 20162323.
- Kaur J. & Kariyat R. (2020). Role of trichomes in plant stress biology. En Núñez-Farfán J. & Valverde P. L. (Eds). *Evolutionary Ecology of Plant-Herbivore Interaction* (pp. 15-35). Springer International Publishing.
- Kraft K. H., Brown C. H., Nabhan G. P., Luedeling E., Luna Ruiz J. D. J., D’Eeckenbrugge G. C., Hijmans, R. J. & Gepts, P. (2014). Multiple lines of evidence for the origin of domesticated chili pepper, *Capsicum annuum*, in Mexico. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(17), 6165–6170.

- Lake J.A., Quick W.P., Beerling D.J. & Woodward F.I. (2001). Signals from mature to new leaves. *Nature*, 411(6834):154.
- López-España R. G., Hernández-Verdugo S., Parra-Terraza S., Porras F., Pacheco-Olvera A., Valdez-Ortiz A., Osuna-Enciso & Muy-Rangel M. D. (2016). Diferenciación geográfica de poblaciones de chile silvestre (*Capsicum annuum* L. var. *glabriusculum*) del noroeste de México. *Phyton (Buenos Aires)*, 85(1), 131-141.
- Luna-Ruiz J. D. J., Nabhan G. P., & Aguilar-Meléndez A. (2018). Shifts in plant chemical defenses of chile pepper (*Capsicum annuum* L.) due to domestication in Mesoamerica. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 6(48).
- Matos C.H.C., Pallini A., Venzon M., de Freitas R.C.P., Rezende D.D.M., Schoereder J.H. (2009). Os Tricomas de *Capsicum* spp. Interferem nos Aspectos Biológicos do Ácaro-Branco, *Polyphagotarsonemus latus* Banks (Acari: Tarsonemidae)?. *Neotropical Entomology*, 38(5):589–594.
- Min S.S., Dong G.K. & Lee S.H. (2005). Isolation and characterization of a jasmonic acid carboxyl methyltransferase gene from hot pepper (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Plant Biology*, 48:292–297.
- Meyer R. S. & Purugganan M. D. (2013). Evolution of crop species: genetics of domestication and diversification. *Nature reviews genetics*, 14(12):840-852.
- Milla R., Osborne C.P., Turcotte M.M. & Violle C. (2015). Plant domestication through an ecological lens. *Trends in Ecology and Evolution*, 30(8):463–469.
- Moreira X., Lundborg L., Zas R., Carrillo-Gavilán A., Borg-Karlson A. K. & Sampedro L. (2013). Inducibility of chemical defences by two chewing insect herbivores in pine trees is specific to targeted plant tissue, particular herbivore and defensive trait. *Phytochemistry*, 94:113-122.
- Moreira X., Abdala-Roberts L., Hernández-Cumplido J., Cuny M. A., Glauser G., & Benrey B. (2015). Specificity of induced defenses, growth, and reproduction in lima bean (*Phaseolus lunatus*) in response to multispecies herbivory. *American Journal of Botany*, 102(8), 1300-1308.
- Moreira X., Abdala-Roberts L., Gols R. & Francisco M. (2018) Plant domestication decreases both constitutive and induced chemical defenses by direct selection against defensive traits. *Scientific Reports*, 8(12678).
- Montezano D. G., Sosa-Gómez D. R., Specht A., Roque-Specht V. F., Sousa-Silva J. C., Paula-Moraes S. D., Petersen J. A. & Hunt, T. E. (2018). Host plants of

Spodoptera frugiperda (Lepidoptera: Noctuidae) in the Americas. *African entomology*, 26(2): 286-300.

- Paran I. & Van Der Knaap E. (2007). Genetic and molecular regulation of fruit and plant domestication traits in tomato and pepper. *Journal of Experimental Botany*, 58(14), 3841-3852.
- Paudel S., Lin P.A., Foolad M.R., Ali J.G., Rajotte E.G. & Felton G.W. (2019). Induced Plant Defenses Against Herbivory in Cultivated and Wild Tomato. *Journal of Chemical Ecology*, 45:693–707.
- Peiffer M. & Felton G.W. (2009). Do caterpillars secrete “oral secretions”? *Journal of Chemical Ecology*, 35:326–335.
- Peiro-Nuño H. J. (2021). Efecto de la domesticación en la resistencia por antibiosis y antixenosis de *Capsicum annuum* contra el insecto generalista *Spodoptera frugiperda*. [Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Baja California]. Repositorio Institucional - Universidad Autónoma de Baja California.
- Ramsay N.A. & Glover B.J. (2005). MYB-bHLH-WD40 protein complex and the evolution of cellular diversity. *Trends in Plant Science*, 10(2):63–70.
- Ruiz-Guerra B., Velázquez-Rosas N., Díaz-Castelazo C. & Guevara R. (2020). Functional Plant Traits and Plant-Herbivore Interactions. En Núñez-Farfán J. & Valverde P. L. (Eds). *Evolutionary Ecology of Plant-Herbivore Interaction* (pp. 191-207). Springer International Publishing.
- Sánchez A. G. R. Norma Oficial Mexicana NOM-239-SE-2020, Chile Yahuallica (*Capsicum annuum* L.)-Denominación-Especificaciones, Información Comercial Y Métodos De Prueba.
- Saugier B. (1983). Plant growth and its limitations in crops and natural communities. En Mooney H. A. & Godron M. (Eds). *Disturbance and ecosystems: components of response* (pp. 159-174). Springer Berlin Heidelberg.
- Schlichting C. D. (1986). The evolution of phenotypic plasticity in plants. *Annual review of ecology and systematics*, 17(1), 667-693.
- Serrano-Mejía C., Bello-Bedoy R., Arteaga M. C. & Castillo, G. R. (2022). Does Domestication Affect Structural and Functional Leaf Epidermal Traits? A Comparison between Wild and Cultivated Mexican Chili Peppers (*Capsicum annuum*). *Plants*, 11(22), 3062.
- Solís-Montero V., Martínez-Natarén D. A., Parra-Tabla V., Ibarra-Cerdeña C. & Munguía-Rosas M. A. (2020). Herbivory and anti-herbivore defences in wild

- and cultivated *Cnidoscolus aconitifolius*: disentangling domestication and environmental effects. *AoB Plants*, 12(3).
- Traw M.B. & Dawson T.E. (2002). Differential induction of trichomes by three herbivores of black mustard. *Oecologia*, 131:526–532.
- Traw M.B. & Bergelson J. (2003). Interactive Effects of Jasmonic Acid, Salicylic Acid, and Gibberellin on Induction of Trichomes in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 133:1367–1375.
- Turcotte M.M., Turley N.E. & Johnson M.T.J. (2014). The impact of domestication on resistance to two generalist herbivores across 29 independent domestication events. *New Phytologist*, 204:671–681.
- Valenzuela-Apodaca A.E. (2019). Variación en la tolerancia al daño mecánico foliar y resistencia contra herbívoros en chile [Tesis de maestría, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada]. <http://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1007/3018>
- Weisenfelder A. E., Huffman V. L., Villalon B. & Burns E. E. (1978). Quality and processing attributes of selected jalapeno pepper cultivars. *Journal of Food Science*, 43(3), 885-887.
- Whitehead S. R., Turcotte M. M., & Poveda K. (2017). Domestication impacts on plant–herbivore interactions: a meta-analysis. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 372(1712): 20160034.
- Yoshida Y., Sano R., Wada T., Takabayashi J., Okada K. (2009). Jasmonic acid control of GLABRA3 links inducible defense and trichome. *Development*, 136(6): 1039–1048.
- Zebelo S., Piorkowski J., Disi J., Fadamiro H. (2014). Secretions from the ventral eversible gland of *Spodoptera exigua* caterpillars activate defense-related genes and induce emission of volatile organic compounds in tomato, *Solanum lycopersicum*. *BMC Plant Biology*, 14:1–12.