

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

Facultad de Ciencias

Facultad de Ciencias Marinas

Instituto de Ciencias Oceanológicas



DOCTORADO EN MEDIO AMBIENTE Y DESARROLLO

“DIVERGENCIA FENOTÍPICA EN PLANTAS DE CHILE CULTIVADO *Capsicum annuum* var. *annuum* Y SU VARIEDAD SILVESTRE *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*”

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN MEDIO AMBIENTE Y DESARROLLO

PRESENTA:

CARLOS GUADALUPE SERRANO MEJÍA

Ensenada Baja California a 21 de diciembre de 2023

DEDICATORIAS

A mi madre Teresa Mejía Luna, gracias por todo mamá, siempre te voy a recordar

A mi Papá José Isabel Serrano Palacios, gracias por tu paciencia y consejos

A mis hermanos José, Enrique (q.e.p.d.) y hermanas Ramona, Dulce, Hortensia y Teresa que siempre me han alentado a terminar este proyecto.

A Paulina, por su paciencia y por estar en los momentos buenos y malos

A Emiliano por alegrar mis días con sus ocurrencias

Y no menos importante, dedico este trabajo al hombre que con su obra causó en mí, la inquietud por entender la vida y cómo ha evolucionado a través del tiempo, Charles Robert Darwin.

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi agradecimiento a todas las personas que, de alguna forma contribuyeron en la realización de este trabajo de investigación, ya sea con sus sugerencias, críticas (siempre constructivas) o solo por simple curiosidad de saber que hacíamos sembrando, regando y cuidando chiles en el laboratorio de Ecología Evolutiva y Evolución de la Facultad de Ciencias.

Al Doctor Rafael Bello Bedoy por brindarme la oportunidad de realizar este proyecto, las facilidades que proporcionó en su laboratorio y por compartir su conocimiento, sin duda es una de las mentes más brillantes que he conocido.

A la Doctora María Clara Arteaga, los Doctores Guillermo Raúl Castillo, Walter Daesslé, y Alejandro Sánchez cuyo valioso aporte durante y la recta final de este trabajo sin duda fue de gran ayuda.

A mis compañeros de generación del programa de Doctorado, Carolina, Humberto, Iván, Liliana y Talía. Un placer compartir clases con ustedes.

Los compañeros de laboratorio que conocí durante mi estancia en el programa, Abigail, Alejandra, Atziri, Carlos, Carlo, Haran, Daniela, Eva, Erik, Edna, Elisa, Emil, Judith, Roberto y Virginia, con quienes pasé muchos buenos momentos y aprendí de sus proyectos.

A mis amigos y amigas que me alentaron durante esta etapa académica Benjamín López, María Inés López, Iván Sujail, Karen Yael, José Miguel Sánchez, Joanne Denilson Fisher (ithanks for your friendship!) and last but not least, to Jaleel Castillo, Mathias Joyce, Carlos Estrada, Karl Schmidt and Matt Johnson from RTNNS!

Al CONACHYT por haberme otorgado el financiamiento para realizar mis estudios, y al programa de Doctorado en Medio Ambiente y Desarrollo de la Universidad Autónoma de Baja California por brindarme la oportunidad de continuar mi formación académica. CONACHYT CVU 591509, (CB2015-1-255631; INFRA 2015)

RESUMEN.

El proceso de domesticación ha generado una gran divergencia entre las especies silvestres y los nuevos individuos generados por este proceso de selección artificial, mediante la selección de uno o varios atributos de interés en una especie, se producirán cambios en otros atributos que no fueron seleccionados de manera intencional, y en ocasiones se desconoce el grado de magnitud de esos cambios, o bien si se presentan o no (como caracteres de resistencia y funcionales en plantas). El género *Capsicum*, se ha domesticado en al menos cinco ocasiones en diferentes zonas geográficas del continente Americano. En México., *Capsicum annuum*, es el cultivar domesticado con la mayor variedad de formas, tamaños y grados de picor existentes debido al amplio proceso de domesticación al que ha sido expuesto. Además de ser un componente biocultural sumamente importante en la cultura mexicana. Se conoce aún poco acerca de los cambios morfológicos o funcionales entre la especie silvestre y las variedades domesticadas desde un contexto evolutivo, por lo que la primera parte de esta investigación se centró en caracterizar cinco variedades domesticadas de chiles cultivadas en México, chile de árbol, serrano, jalapeño, guero, pimiento morrón, y yahualica, más una población silvestre de chile proveniente de san pedro de la cueva, Sonora. Se caracterizó la parte vegetativa y reproductiva, resultando en una separación entre variedades domesticadas y la especie silvestre, dada principalmente por el fruto, el cual es de carácter bajo selección. Lo que indica que cada cultivar posee una identidad fenotípica bien definida. La segunda parte de este trabajo planteo si la epidermis foliar, carácter no seleccionado directamente por el proceso de domesticación, ha cambiado durante el proceso y si se presenta divergencia morfológica en la epidermis de las hojas, así como su función en evapotranspiración y resistencia a herbívoros. Teniendo como resultados que la epidermis foliar, bajo condiciones impuestas por selección en ambientes agrícolas no ha cambiado completamente el fenotipo morfo-funcional de la hoja.

ABSTRACT.

The domestication process has generated a great divergence between wild species and the new individuals generated by this artificial selection process. By selecting one or more attributes of interest in a species, changes will occur in other attributes that were not selected intentionally, and sometimes the degree of magnitude of these changes is unknown, or whether they occur or not (as resistance and functional traits in plants) The genus *Capsicum* has been domesticated on at least five occasions in different geographical areas of the american continent. In Mexico, *Capsicum annuum annuum* variety is the domesticated cultivar with the greatest variety of shapes, sizes and degrees of hotness due to the extensive domestication process to which it has been exposed. In addition to being an extremely important biocultural component in Mexican culture. Little is still known about the morphological or functional changes between the wild species and the domesticated varieties from an evolutionary context, so the first part of this research focused on characterizing five domesticated varieties of chili peppers grown in Mexico, chile de arbol, serrano, guero, jalapeño, bell pepper and yahualica, plus a wild population of chili from San Pedro de la Cueva, Sonora. The vegetative and reproductive part was characterized, resulting in a separation between domesticated varieties and the wild species,

given mainly by the fruit, which is a character under selection. Which indicates that each cultivar has a well-defined phenotypic identity. The second part of this work proposes whether the leaf epidermis, character not directly selected

By the domestication process, it has changed during the process and morphological divergence occurs in the epidermis of the leaves, as well as its function in evapotranspiration and resistance to herbivores. The results are that the leaf epidermis, under conditions imposed by selection in agricultural environments, has not completely changed the morpho-functional phenotype of the leaf.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

Facultad de Ciencias

Facultad de Ciencias Marinas

Instituto de Ciencias Oceanológicas

DOCTORADO EN MEDIO AMBIENTE Y DESARROLLO

“DIVERGENCIA FENOTÍPICA EN PLANTAS DE CHILE CULTIVADO *Capsicum annuum* var. *annuum* Y SU VARIEDAD SILVESTRE *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*”

TESIS

Para obtener el grado de:

DOCTOR EN MEDIO AMBIENTE Y DESARROLLO

PRESENTA:

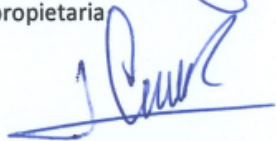
CARLOS GUADALUPE SERRANO MEJÍA



Dr. Rafael Bello Bedoy
Presidente del jurado



Dra. María Clara Arteaga Uribe
Sinodal propietaria



Dr. Guillermo Raúl Castillo Sánchez
Sinodal propietario



Dr. Luis Walter Daesslé Heuser
Sinodal propietario



Dr. Alejandro Sánchez González
Sinodal propietario

ÍNDICE

CAPÍTULO 1:

1. Introducción.....	1
1.1 Origen y domesticación de <i>Capsicum sp.</i>	3
1.2 Domesticación en <i>Capsicum sp.</i>	4
1.3 Variación en la defensa en plantas domesticadas	5
1.4 Herbivoría.....	6
Justificación	7
Bibliografía.....	7

CAPÍTULO 2:

Caracterización fenotípica de plantas de chiles silvestres y domesticadas de <i>Capsicum sp.</i>	9
Introducción.....	9
Metodología.....	11
Material vegetal.....	11
Caracteres vegetativos.....	14
Medición de flores.....	13
Caracterización de frutos.....	15
Resultados.....	19
Discusión.....	24
Bibliografía.....	30

CAPÍTULO 3:

¿Afecta la domesticación la estructura y función de la epidermis foliar? Una comparación entre chiles silvestres y cultivados mexicanos (<i>Capsicum annuum</i>).....	35
---	----

CAPÍTULO 4

Discusión General	50
Bibliografía.....	53

ÍNDICE DE FIGURAS

1. Caracteres medidos en las hojas de cultivares domesticados y la variedad silvestre de <i>Capsicum</i>	17
2. Mediciones realizadas en caracteres florales en cada una de los cultivares domesticados y variedad silvestre.....	19
3. Mediciones realizadas a los frutos de <i>Capsicum</i> , 1) Morfología básica, área y perímetro del fruto. 2) morfología interna, área del pericarpio. 3) Asimetría del fruto. Asimetría horizontal.	21
4. Cultivares domesticados más la variedad silvestre (Chiltepín) descritos en este estudio, plantas, hojas, flores y frutos	23
5. Cortes longitudinales en frutos frescos de seis cultivares domesticados y silvestre de Chile, Güero santa fe, Morrón, Chile de árbol, Jalapeño, Serrano, Yahualica y Chile silvestre (SPCV) analizadas con el software Tomato Analyzer.....	24
6. Análisis de componentes principales de los caracteres vegetativos.....	25
7. Análisis de componentes principales de los caracteres de la hoja.....	26
8. Análisis de componentes principales de los caracteres florales.....	27
9. Análisis de componentes principales de los caracteres del fruto.....	28

ÍNDICE DE TABLAS

1. Caracteres medidos en la parte vegetativa en cultivares domesticados y variedad silvestre.....	16
2. Caracteres medidos en las hojas de cultivares domesticados y variedad silvestre.....	17
3. Caracteres medidos en las flores de cultivares domesticados y variedad silvestre.....	18
4. Caracteres seleccionados relacionados con aspectos de la morfología externa e interna de los frutos de <i>Capsicum</i> medidos con el software Tomato Analyzer.....	22
5. Eigenvalores y eigenvectores del análisis de componentes principales para los caracteres vegetativos y reproductivos de <i>Capsicum</i>	29

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN.

La domesticación de plantas y animales marca una gran transición evolutiva en la historia humana, una transición con impactos globales y duraderos (Zeder, 2015). La domesticación es un proceso mediante el cual las plantas, animales y otros organismos son modificados por el hombre consciente o inconscientemente por medio de la selección artificial (Darwin, 1959; Purruuganan, 2022). Este proceso resulta en genotipos adaptados a condiciones particulares de forma similar a lo que resulta en poblaciones naturales por selección natural (Spengler, 2020). La selección natural es un mecanismo que actúa sobre los individuos al incrementar la probabilidad de contribuir con más descendencia a la siguiente generación. De forma análoga en el caso de las plantas domesticadas, la selección artificial junto con las nuevas condiciones ambientales locales, producirán nuevos fenotipos adaptados a las condiciones agrícolas, los cuales divergen ampliamente respecto a su ancestro silvestre (Meyer, 2012).

En la domesticación, se establece una relación mutualista entre el domesticador y el domesticado, de carácter multigeneracional y sostenida. En la cual, un organismo asume un grado significativo de influencia sobre la reproducción y cuidado de otro organismo, asegurando un suministro más predecible del recurso de interés (Zeder 2015).

La interacción coevolutiva que resulte del manejo de otra especie para su beneficio y promueva la dependencia de la especie domesticada es considerada el epítome de la domesticación (Zeder 2015). Bajo estos supuestos, el proceso de domesticación ha evolucionado al menos en cinco ocasiones, uno de los ejemplos clásicos de un proceso similar a la domesticación es el cultivo de especies fúngicas por parte de hormigas cultivadoras (subfamilia Myrmicinae) (Purugganan, 2022) escarabajos ambrosiales y termitas (Mueller, 2005). Sin embargo, los humanos han sido los domesticadores más prolíficos al domesticar cientos de especies vegetales y animales, con fines alimenticios, extracción de materiales, y compañía durante los últimos 12,000 años. La domesticación es una forma distintiva de selección artificial que promueve la evolución biológica, fijación de atributos de animales o vegetales, los cuales producen un beneficio para la parte domesticadora (Meyer 2013).

Darwin (1859) fue el primero en documentar sistemáticamente los efectos de la selección en plantas y animales; en su obra *El origen de las especies por medio de la selección natural* (1859) utilizó por primera vez el concepto de “selección inconsciente” para

referirse al tipo de selección que opera en cultivos. En 1882, expandió el concepto en su obra "Variación en animales y plantas bajo domesticación". Sin embargo, el concepto de selección inconsciente propuesto por Darwin, no considera la falta de intención por parte del domesticador en alterar el cultivo, y no explica cómo opera el proceso de selección, tampoco considera el impacto en la ecología y su manejo (Zohary, 2004). Estudios posteriores han demostrado la generación de cambios drásticos en caracteres morfológicos y la historia de vida de los organismos bajo selección artificial (Whitehead., 2016, Turcotte, 2014). En particular Conner, (2003) propone que la selección artificial es un mecanismo fundamental para entender cómo actúa la selección natural. Al realizar experimentos en condiciones ecológicas naturales y recrear los procesos de selección natural para entender cómo actúa.

En general, las especies bajo domesticación experimentan el nuevo proceso de adaptación a los ambientes agro ecológicos. Las preferencias humanas impuestas por este tipo de selección antropogénica muestran un incremento de tamaño de la parte cosechada, el cual tiene influencia sobre estrategias ecológicas y fisiológicas (Niklas, 1994; West, 1997; Arendt, 2007), así como en las interacciones (Kraft *et al*, 2015). Una recopilación de estudios llevada a cabo por Darimont *et al.*, (2009) encontraron cambios fenotípicos dramáticos ocurridos en 40 sistemas de estudio cultivados por humanos, entre los que se encuentran invertebrados, vertebrados y plantas. Dichos cambios ocurrían con mayor rapidez no solamente en organismos cultivados, sino también, por perturbaciones producidas en sistemas naturales. Por ejemplo, un efecto notable de la selección humana ocurre en animales de presa, ya que la presión de selección impuesta por la cacería modificó de 18 a 29% la morfología y reproducción en dichos animales. La relación tamaño corporal/tamaño de ornamenta declinó en 282 de 297 casos (94.9%) en ungulados, (decremento promedio de 18.3%) También ocurrieron cambios en la historia de vida, (reproducción a edades tempranas/tallas pequeñas, incremento en el esfuerzo reproductivo). Ocurriendo en 173 de 178 de casos, (97.2%) para un cambio promedio de 24.9% (Darimont, 2009)

Domesticación en plantas.

En las plantas, la selección artificial promueve una serie de adaptaciones fenotípicas conocidas como síndrome de domesticación. Este síndrome no es exclusivo de plantas, en animales también se presenta, (asociado a una serie de cambios en células de la cresta neural y comportamiento, Gleeson, 2023; Hetch, 2023). En plantas, sin embargo, el efecto

que generalmente resulta de esta selección es un incremento del tamaño de algunos órganos como la semilla o los frutos (Meyer et al., 2012). El síndrome de domesticación es un conjunto de caracteres que se presentan y se observan en las plantas cultivadas modernas que pertenecen a linajes independientes y que son el resultado de la selección artificial (Purugganan, 2009). Esta convergencia de rasgos primeramente propuesta para pastos (Harland 1992) se ha encontrado en otras plantas y se ha apoyado la idea de que la domesticación promueve rasgos similares y divergentes a los de su forma ancestral (Milla, 2015). Algunos rasgos de este síndrome son la pérdida de la capacidad de dispersión, incremento en la estructura bajo selección (especialmente los frutos), pérdida de la dormancia en semillas, incremento en tamaño de las semillas (Kluyver *et al.*, 2013), pérdida o disminución de las defensas químicas y físicas contra herbívoros, uniformidad en las tasas de germinación y floración (Milla et al., 2012; Turcotte, 2014).

Otra de las consecuencias de este proceso es la generación de cambios, que repercuten de manera indirecta sobre algunos atributos constitutivos como las defensas físicas (tricomas foliares, espinas, cutículas cerosas), que suelen constituir la primera barrera contra herbívoros (Kariyat, 2017), y también se producen cambios cualitativos, reflejados en la variación y disminución del estado de las defensas químicas en plantas domésticas (Luna Ruiz, 2018). Al mismo tiempo, otros atributos funcionales como modificaciones en la epidermis de las hojas pueden alterar la regulación de la temperatura, apertura y cierre de estomas y productividad fotosintética (Prill, 2014, Milla, 2013; 2015).

Etapas de la domesticación.

El proceso de domesticación en cultivos a partir de sus formas ancestrales, consta de cuatro etapas (Meyer, 2013). En la primera etapa o inicio de la domesticación la selección ocurre todavía en condiciones silvestres, y solo consiste en elegir los fenotipos deseables para comenzar a cultivarlos. La segunda etapa, o fase de mejoramiento, comprende la diversificación y adaptación de las variedades domésticas a diferentes ambientes agroecológicos y culturales. Esta fase produce divergencias fenotípicas y genotípicas entre las poblaciones domesticadas y las poblaciones silvestres. La tercera etapa, comprende un periodo de adaptación local de los cultivos a diferentes prácticas humanas, surgidas producto de la radiación geográfica de las especies domesticadas. La cuarta y última etapa, es donde se realiza el cultivo y crianza de manera deliberada de variedades para fijar atributos deseados e incrementar atributos como el rendimiento. En esta última fase es donde se han fijado caracteres propios del síndrome de domesticación como la uniformidad en tasas de germinación, crecimiento y facilidad de cosecha. Además de la adaptación de los cultivos a nuevos ambientes (Meyer, 2013).

Las diferentes etapas de la domesticación tienen resultados característicos que dependen de la intensidad de la selección y del proceso en el que se encuentran actualmente. Meyer et al (2012) definen claramente los grados de domesticación: Por ejemplo, una especie en estado domesticado se refiere a plantas que son morfológica y genéticamente distintas de sus ancestros silvestres como resultado de la selección artificial, o que ya no se conocen fuera del cultivo. Un cultivo "semidomesticado" es aquel que está bajo cultivo y sujeto a presiones conscientes de selección artificial. Aunque pueden existir cultivares nombrados, estos aún no están claramente diferenciados morfológica o genéticamente de sus contrapartes silvestres, como algunas variedades criollas de *C. annuum* (Pérez Martínez et al., 2022); o como el caso del tomate verde *Physalis Philadelphica* (Solanaceae). Finalmente, "no domesticado" se refiere a plantas no cultivadas que continúan siendo recolectadas en estado silvestre sin presiones conscientes de selección artificial y sin diferenciaciones morfológicas y/o genéticas discernibles que podrían ser utilizadas para distinguirlas como un domesticado. Un ejemplo de estos es la especie *Anoda christata*, una herbácea del centro de México que es manejada y a la cual sus fenotipos no se han diferenciado de tal forma que limiten su existencia en su hábitat natural (Bernal-Ramírez, 2021)

1.3 Variación de la defensa en plantas domésticas.

Se estima que globalmente existen alrededor de 2,500 especies de plantas bajo cultivo (Meyer et al, 2012), este proceso de domesticación ha llevado a la generación de nuevos fenotipos con órganos más grandes y palatables, un incremento en el tamaño en número de frutos y semillas (Doebley, 2006), biomasa, y otras modificaciones en la parte aérea de las plantas. Pero también ha generado un menor contenido y calidad de los compuestos secundarios (Magnussen, 2007), derivado de un proceso continuo de adaptación que ocurre en cultivos domésticos impulsado por la selección humana y las nuevas condiciones ecológicas a las que se enfrentan (Chaudhary., 2013). Se propone que, de manera indirecta, se han disminuido atributos como la resistencia a factores bióticos (patógenos y herbívoros) y abióticos (sequía, temperatura). Bajo esta hipótesis, se espera que, durante la evolución por domesticación, los niveles defensivos contra herbívoros en plantas domesticadas se expresan en muy bajos niveles, o haya falta de expresión de estos, producto de la selección de otros rasgos (Chen et al, 2015). Una posible explicación, es que, en términos de energía, la producción de defensas químicas es costosa (Hermes y

Mattson, 1992) y es probable que los recursos que inicialmente se destinarán para defensa, se reasignan para crecimiento y rendimiento de la planta (Rosenthal y Dirzo, 1997). Entonces, la selección dirigida inicialmente para un mayor rendimiento y calidad nutricional en cultivos, disminuye la asignación de recursos hacia los rasgos defensivos de la planta (Chen *et al*, 2015). Otra consecuencia en la reducción de las cualidades defensivas contra herbívoros en plantas domesticadas, es el uso intensivo de pesticidas en cultivos desde hace 50 años. Además de la reducción en la diversidad genética producto de cuellos de botella asociados con el proceso de domesticación (Wright *et al*, 2005; Yamasaki *et al*, 2005; Flint-García, 2013), lo que disminuye la capacidad adaptativa de variedades de cultivos domesticados a condiciones no óptimas (Mitchell, 2016).

1.4 Herbivoría.

Gran parte del éxito de las plantas para colonizar numerosos ambientes, se debe a su capacidad de resistir y tolerar el daño causado por herbívoros en condiciones naturales y de cultivo (Hanley *et al*, 2007). Las plantas generalmente presentan dos estrategias defensivas para contrarrestar el daño causado por herbívoros (Muola *et al*, 2010; Mitchell, 2016), la resistencia es la capacidad de evitar o reducir el daño en los tejidos (Núñez-Farfán *et al*., 2007), mientras que la tolerancia es una estrategia que se activa una vez que el daño ocurre para minimizar el impacto negativo producido por la herbivoría (Strauss, Agrawal., 1999, Tiffin, 2000). La resistencia a la herbivoría puede estar dada por estructuras físicas como tricomas, espinas, cutículas cerosas que actúan como una barrera física contra herbívoros, impidiendo la ingesta y oviposición (Mitchell, 2016). Además, las plantas sintetizan compuestos químicos como fenoles, alcaloides o terpenos que suelen ser tóxicos o perjudican la función intestinal de los insectos, reduciendo la magnitud del daño que experimentan las plantas. La resistencia y tolerancia son atributos genéticamente determinados, que muestran variación genética heredable dentro de las especies de plantas que a menudo, están bajo selección ejercida por herbívoros (Muola *et al*, 2010).

La herbivoría es considerada como el mayor factor desequilibrante de la productividad en agroecosistemas, causando pérdidas significativas en el rendimiento de las plantas y degradando la calidad de los cultivos. Como resultado de esto, las plantas han adquirido una resistencia inherente a los herbívoros (por mecanismos hereditarios). Sin embargo, la intensidad de la resistencia a la herbivoría varía considerablemente entre formas silvestres y domésticas. Ya que, en términos de costos, la producción de defensas de tipo físico y/o químico involucra costos metabólicos asociados con dichos mecanismos defensivos (Rosenthal, Dirzo., 1997).

La domesticación en cultivos ha alterado las interacciones entre plantas y herbívoros, a través de un número de diversos mecanismos evolutivos (Whitehead *et al.*, 2016). Un efecto de la domesticación es la modificación de las bases genéticas de la defensa. Es esperado encontrar cambios drásticos en la arquitectura genética de las plantas cultivadas debido a diferentes mecanismos como la hibridación, reducción de la diversidad genética debido a cuellos de botella, alteración de las estrategias reproductivas (auto fertilización; referencia). Dichas modificaciones genéticas generan cambios que producen consecuencias complejas en la expresión de algunos atributos defensivos de las plantas.

La disminución de la capacidad de las plantas para defenderse de sus herbívoros como resultado de la domesticación es un fenómeno que se ha examinado en las últimas dos décadas (Dirzo *et al.*, 1997; Hernández-Cumplido *et al.*, 2018). La disminución en las defensas podrá ser explicada por diferentes hipótesis. En primer lugar, los componentes de la resistencia contra los insectos no son seleccionados conscientemente durante la domesticación, lo que genera una pérdida o disminución en la presencia de los rasgos que confieren la defensa en las plantas. Por el contrario, Los humanos podrían seleccionar en contra, atributos como metabolitos secundarios que son tóxicos o reducen la palatabilidad de los frutos u hojas de interés, pero que podrían tener una parte activa en la defensa contra los herbívoros. Esto expone los tejidos vegetales y aumenta la probabilidad de ataque por herbívoros e incrementa la magnitud del daño por herbívoros (Chen, 2015). Finalmente, el uso de los insecticidas para el manejo de las plantas relaja la selección sobre la resistencia, lo que implica que los ambiente no representa un ambiente que favorezca la evolución de la defensa contra los herbívoros, de esta forma la reducción en producción de estructuras físicas y químicas defensivas no se penaliza en estos ambientes.

En conclusión, la reducción de la defensa contra herbívoros en plantas domesticadas es un fenómeno complejo que puede explicarse por diferentes factores, incluyendo la ausencia de selección consciente, el relajamiento de la selección en ambientes agrícolas y la selección en contra de metabolitos secundarios tóxicos que participan en la defensa contra herbívoros. Entender estos factores es crucial para comprender la vulnerabilidad de las plantas domesticadas a los herbívoros y para desarrollar estrategias de manejo más efectivas en sistemas agrícolas.

1.1 Origen y domesticación del *chile Capsicum annuum*

Capsicum es un género de plantas de origen exclusivamente americano que surgió en las

tierras altas del este de Bolivia (Chiou *et al.*, 2013). A partir de este centro de origen, el género *Capsicum* se diversificó a través de América. El género está constituido por más de 36 especies (Moscone *et al.*, 2007; Eshbaugh, 2012) de las cuales, solo cinco especies se han domesticado en distintas regiones geográficas (Andrews, 1984, Basu & De, 2003, Davenport, 1970, Eshbaugh, 1976, 1980, Pickersgill 1969): *Capsicum annuum* y *Capsicum baccatum*, se domesticaron en las tierras bajas del Perú, *Capsicum chinense* y *Capsicum frutescens* quizá tienen afinidades más tropicales en la región noreste del Amazonas, *Capsicum pubescens* es probable que también se haya domesticado en Bolivia. De las cinco especies mencionadas anteriormente, *Capsicum annuum* es la especie que actualmente presenta la mayor variedad de formas de fruto, y es cultivada en todo el mundo (Paran, 2007). Actualmente, se estima que los frutos de chile de tipo pimiento, en su forma fresca, son económicamente de los más importantes a nivel mundial, y forman un componente importante de las dietas en varias partes del mundo, (Votava y Bosland 2000). Los chiles de tipo pimiento fueron descritos por primera vez hace 500 años aproximadamente, la variedad más antigua usada en cultivos fue descrita por Boswell (1937), la mayoría de los pimientos actuales derivan de la especie *Capsicum annuum*, sin embargo, existen otras variedades no pungentes que forman parte de otras especies de *Capsicum* (Votava y Bosland., 2002).

Capsicum annuum fue una de las primeras plantas en ser domesticadas en las Américas junto con el maíz, frijol y la calabaza (Paran, 2007; Pickershill 2007). Existen restos arqueológicos de microfósiles de *Capsicum* hallados en Sudamérica y América central fechados en más de 6.000 años de antigüedad (Perry *et al.*, 2007): En México, la evidencia más antigua de un fruto de chile se encontró durante excavaciones realizadas en el valle de Tehuacán, Puebla, en la cueva de Coxcatlán, cuyo nivel estratigráfico lo sitúa entre 5.000 y 3.500 a.c. (Long-Solís, 1986); se trata de un chile al parecer domesticado, cuya forma es bastante similar a los chiles secos que se cultivan actualmente. MacNeish (1967) propone que el chile ya se encontraba bajo cultivo durante esa época. Por su parte, Mc Lung (1992) ha sugerido mediante evidencias arqueológicas, que hace 7000 años, los humanos ya habían incluido los chiles silvestres como parte de su dieta.

Evidencias recientes sugieren que, en México, se domesticó cerca de la región de Veracruz (Aguilar-Meléndez, 2006., Aguilar-Meléndez *et al*, 2009., Albrecht *et al*, 2012., Hernández-Verdugo *et al*, 1999, 2001). Sin embargo, un estudio basado en evidencia ecológica, genética, climática y antropológica sugiere que *C. annuum* fue domesticado de

forma independiente en diferentes zonas geográficas correspondientes al territorio mexicano (Kraft et al 2015) y en diferentes zonas geográficas del continente americano (Bolivia y Perú respectivamente).

C. annuum var. *Glabriusculum*, la variedad silvestre, es arbusto sub frutescente que se caracteriza por producir frutos rojos pungentes. Cuya distribución en el noroeste de México va de Sonora a Chiapas, en el este desde Tamaulipas hasta la península de Yucatán (Laborde, 1982), también ocurre al sur de los Estados Unidos, en Arizona y Texas (Kraft, 2013). La pungencia o picor es producida por la acumulación de alcaloides capsaicinoides, de los cuales la capsaicina e hidrocapsaicina son los más representativos, ambos se sintetizan en la placenta del fruto (González et al, 2011). La capsaicina evolucionó como un compuesto fungicida que evita la infección de las semillas por un hongo, cuyas esporas son transmitidas por un escarabajo curculiónido (Tewksbury., et al 2008). Estudios posteriores (Ahn, 2011; Javidi, 2021) han demostrado el valor adaptativo de la capsaicina como defensa contra mamíferos pequeños, y se sugiere que se favoreció el consumo y dispersión de semillas a distancias mayores por parte de las aves, que no son sensibles a efecto pungente de los chiles (Tewksbury y Nabhan, 2001).

Según Paran y Van de Knaap (2007) el carácter deciduo o no deciduo de los frutos es un atributo determinante del proceso de domesticación en *Capsicum*. Los chiles silvestres son de carácter deciduo, se desprenden fácilmente del pedúnculo al llegar a la madurez, característica que facilita su dispersión. Por el contrario, los frutos domesticados son no deciduos, crecen de forma pendular y permanecen en la planta hasta el momento de la cosecha. Este cambio se debe al incremento en la biomasa del fruto, el cual ha incrementado en las formas domesticadas cultivadas actualmente. Otros atributos modificados notablemente por el proceso de domesticación y mejoramiento son la morfología del fruto, y el aumento o disminución de la pungencia o picor, lo cual es un proceso sumamente variado y complejo (Rezende et al, 2019). Los frutos de chiles silvestres tienen formas generalmente esféricas, ovaladas y alargadas, mientras que la selección constante sobre los frutos en plantas de chiles domesticados ha generado una gran variedad de formas y coloraciones, comparado con la coloración roja de los frutos silvestres.

JUSTIFICACIÓN.

Este estudio parte del problema de que hace falta conocer la influencia de la domesticación sobre el fenotipo vegetativo y reproductivo en plantas, y al mismo tiempo,

entender las implicaciones ecológicas y funcionales de la domesticación en las plantas (Meyer et al., 2015). Si bien se han realizado esfuerzos enormes para comprender los efectos de la domesticación en otros cultivos como el maíz, el arroz, o el tomate (Meyer, 2012), existen otros cultivos de mucha importancia que han recibido menos atención como los chiles mexicanos. El estudio de los chiles mexicanos *Capsicum annuum* ha cobrado importancia en las últimas décadas. A pesar de ello, el número de estudios que se enfocan en la domesticación desde un punto de vista biológico sigue siendo reducido y en su mayoría se enfocan a la parte agrícola. En contraste, órganos como las hojas, las raíces o flores han recibido menos atención por este tipo de estudios, reduciendo nuestra capacidad de entender la adaptación de otros rasgos fenotípicos al estado doméstico.

Tomando en cuenta que existen pocos estudios que abordan la evolución del fenotipo de plantas de chiles silvestres y domesticados mexicanos, esta tesis fue diseñada para analizar y comprender la magnitud y divergencia fenotípica entre cultivares de chiles domesticados *Capsicum annuum* variedad *annuum* y su contraparte silvestre *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*, mediante la fenotipificación de caracteres morfológicos de tallos, hojas, flores y frutos. Además de relacionarlo con su función para examinar las implicaciones ecológicas y evolutivas que acompañan a las modificaciones del fruto.

El presente trabajo aborda el estudio detallado de caracteres vegetativos, como tallo y hoja, y reproductivos como flores y frutos. De ellos, el fruto es el principal atributo bajo selección en *Capsicum annuum*. El segundo capítulo se enfoca en poner a prueba el efecto de la domesticación sobre caracteres estructurales de la epidermis foliar y sus implicaciones funcionales como la conductancia estomática y la variación en las propiedades defensivas (químicas y físicas) presentes en plantas domésticas y silvestres, mediante la evaluación del efecto en la supervivencia de larvas de *Spodoptera frugiperda* (Insecta: Noctuidae) alimentadas mediante una dieta compuesta de hojas de variedades domesticadas y silvestres. Al analizar la variación estructural de los diferentes órganos de las plantas y su efecto en la fisiología de las plantas, este estudio contribuye a discutir los impactos de la domesticación y aplicar estrategias clásicas y avanzadas de mejoramiento genético para maximizar su producción en sistemas agroecológicos.

Bibliografía.

- Ballina-Gómez, Horacio, Latournerie-Moreno, Luis, Ruiz-Sanchez, Esau, Perez-Gutierrez, Alfonso, & Rosado-Lugo, Gabriel. (2013). Morphological characterization of *Capsicum annum* L. accessions from southern Mexico and their response to the Bemisia tabaci-Begomovirus complex. *Chilean journal of agricultural research*, 73(4), 329-338. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392013000400001>
- Bernal-Ramírez, L. A., Bravo-Aviles, D., Fornoni, J., Valverde, P. L., & Rendón-Aguilar, B. (2021). Efecto de la selección humana sobre rasgos seleccionados y correlacionados en *Anoda cristata* (L.) Schlttdl.(Malvaceae). *Botanical Sciences*, 99(2), 342-363.
- Bosland, P. W., Votava, E. J., & Votava, E.M. (2012). *Pimientos: pimientos vegetales y especias* (Vol. 22). Cabi.
- Eshbaugh, W. H. (2012). The taxonomy of the genus *Capsicum*. *Peppers: Botany, production and uses*, 14-28.
- F.J.B. Reifschneider, C.S.C. Ribeiro *et al.* C.S.C. Ribeiro, C.A. Lopes, S.I.C. Carvalho, G.M. Henz (Eds.), *Pimentas Capsicum*, Embrapa Hortaliças, Brasília (2008), pp. 11-14
- 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.
- FAO, F. (2018). FAOSTAT statistical database.
- Gleeson, B. T., & Wilson, L. A. (2023). Shared reproductive disruption, not neural crest or tameness, explains the domestication syndrome. *Proceedings of the Royal Society B*, 290(1995), 20222464.
- Hancock, J. F. (2005). Contributions of domesticated plant studies to our understanding of plant evolution. *Annals of Botany*, 96(6), 953-963.
- Hernández-Verdugo, S., Dávila, P., & Oyama, K. (1999). Síntesis del conocimiento taxonómico, origen y domesticación del género *Capsicum*. *Botanical Sciences*, (64), 65-84.
- Hernández-Verdugo, S., López-España, R. G., Sánchez-Peña, P., Villarreal-Romero, M., Parra-Terraza, S., Porras, F., & Corrales-Madrid, J. L. (2008). Variación fenotípica entre y dentro de poblaciones silvestres de Chile del noroeste de México. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 31(4), 323-323.
- Hecht, E. E., Barton, S. A., Flattery, C. N. R., & Meza, A. M. (2023). The evolutionary neuroscience of domestication. *Trends in Cognitive Sciences*.
- Hurtado, M., Vilanova, S., Plazas, M., Gramazio, P., Herraiz, F. J., Andújar, I., & Prohens, J. (2013). Phenomics of fruit shape in eggplant (*Solanum melongena* L.) using Tomato Analyzer software. *Scientia Horticulturae*, 164, 625-632.
- International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI) (1995). *Descriptors for Capsicum (Capsicum spp.)*. International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI), Rome.
- Javidi, V. (2021). Effect of cinnamon, capsaicin, cinnamamide, quinine, and shell perforation on seed predation.
- Kim, S., Park, M., Yeom, S. I., Kim, Y. M., Lee, J. M., Lee, H. A., & Choi, D. (2014). Genome sequence of the hot pepper provides insights into the evolution of pungency in *Capsicum* species. *Nature*

genetics, 46(3), 270-278.

- Kraft, K. H., de Jesús Luna-Ruíz, J., & Gepts, P. (2013). A new collection of wild populations of Capsicum in Mexico and the southern United States. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 60, 225-232.
- Laborde Cancino, J. A., & Pozo Campodónico, O. (1982). Present and past of chile in Mexico. Mexico, DF: Ministry of Agriculture and Water Resources, National Agricultural Research Institute.
- Meléndez, A. A. (2006). *Ethnobotanical and molecular data reveal the complexity of the domestication of chiles (Capsicum annum L.) in Mexico*. University of California, Riverside.
- Meyer, R. S., DuVal, A. E., & Jensen, H. R. (2012). Patterns and processes in crop domestication: an historical review and quantitative analysis of 203 global food crops. *New Phytologist*, 196(1), 29-48.
- 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., de Diego-Vico, N., & Martín-Robles, N. (2013). Shifts in stomatal traits following the domestication of plant species. *Journal of Experimental Botany*, 64(11), 3137-3146.
- Milla, R., & Matesanz, S. (2017). Growing larger with domestication: a matter of physiology, morphology or allocation? *Plant Biology*, 19(3), 475-483.
- Milla, R., Morente-López, J., Alonso-Rodrigo, J. M., Martín-Robles, N., & Stuart Chapin III, F. (2014). Shifts and disruptions in resource-use trait syndromes during the evolution of herbaceous crops. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 281(1793), 20141429.
- Milla, R., Osborne, C. P., Turcotte, M. M., & Violle, C. (2015). Plant domestication through an ecological lens. *Trends in ecology & evolution*, 30(8), 463-469.
- Moles A.T., Falster D.S., Leishman M.R., Westoby M. (2004) Small-seeded species produce more seeds per square metre of canopy per year, but not per individual per lifetime. *Journal of Ecology*, 92, 384–396.
- Moscone, E.A., et al., (2007). The evolution of chili peppers (Capsicum - Solanaceae): a cytogenetic perspective. *Acta Hort.* 745, 137–169. <https://doi.org/10.17660/>
- Nankar, A. N., Tringovska, I., Grozeva, S., Todorova, V., & Kostova, D. (2020). Application of high-throughput phenotyping tool Tomato Analyzer to characterize Balkan Capsicum fruit diversity. *Scientia Horticulturae*, 260, 108862.
- Orobiyi, A., Loko, L. Y., Sanoussi, F., Agré, A. P., Korie, N., Gbaguidi, A., & Dansi, A. (2018). Agro-morphological characterization of chili pepper landraces (Capsicum annum L.) cultivated in Northern Benin. *Genetic resources and crop evolution*, 65(2), 555-569.
- Pereira-Dias, L., Fita, A., Vilanova, S., Sánchez-López, E., & Rodríguez-Burruezo, A. (2020). Phenomics of elite heirlooms of peppers (Capsicum annum L.) from the Spanish centre of diversity: Conventional and high-throughput digital tools towards varietal typification. *Scientia Horticulturae*, 265, 109245.
- Pérez-Martínez, A. L., Eguiarte, L. E., Mercer, K. L., Martínez-Ainsworth, N. E., McHale, L., van der Knaap, E., &

- Jardón-Barbolla, L. (2022). Genetic diversity, gene flow, and differentiation among wild, semiwild, and landrace chile pepper (*Capsicum annuum*) populations in Oaxaca, Mexico. *American Journal of Botany*, *109*(7), 1157-1176
- Pickersgill, B. (1997). Genetic resources and breeding of *Capsicum* spp. *Euphytica*, *96*(1), 129-133.
- Price C.A., Wright I.J., Ackerly D.D., Niinemets U., Reich P.B., Veneklaas E.J. (2014) Are leaf functional traits “invariant” with plant size and what is “invariance” anyway? *Functional Ecology*, *28*, 1330–1343.
- Purugganan, M. D., & Fuller, D. Q. (2009). The nature of selection during plant domestication. *Nature*, *457*(7231), 843-848.
- Purugganan, M. D. (2019). Evolutionary insights into the nature of plant domestication. *Current Biology*, *29*(14), R705-R714.
- Tewksbury, J. J., & Nabhan, G. P. (2001). Directed deterrence by capsaicin in chillies. *Nature*, *412*(6845), 403-404
- Tewksbury, J. J., Reagan, K. M., Machnicki, N. J., Carlo, T. A., Haak, D. C., Penaloza, A. L. C., & Levey, D. J. (2008). Evolutionary ecology of pungency in wild chilies. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *105*(33), 11808-11811
- Tripodi, P., & Greco, B. (2018). Large scale phenotyping provides insight into the diversity of vegetative and reproductive organs in a wide collection of wild and domesticated peppers (*Capsicum* spp.). *Plants*, *7*(4), 103.
- Votava, E. J., & Bosland, P. W. (2002). A cultivar by any other name: Genetic variability in heirloom bell pepper California Wonder'. *HortScience*, *37*(7), 1100-1102
- Zeder, M. A. (2015). Core questions in domestication research. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *112*(11), 3191-3198.

CAPÍTULO 2

CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA DE SEIS VARIEDADES DE CHILES DOMESTICOS (*Capsicum annuum* var. *annuum*) Y UNA VARIEDAD SILVESTRE (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*)

INTRODUCCIÓN.

La domesticación es un proceso dirigido por humanos que comúnmente causa divergencia en uno o varios atributos entre el ancestro silvestre y los cultivares por selección consciente o inconsciente (Stetter, 2017; Purugganan, 2022). En la mayoría de los casos, la selección artificial ejercida por los seres humanos se orienta hacia uno o varios rasgos fenotípicos u órganos de la planta, o hacia la alteración de la arquitectura vegetal (Purugganan, 2009; Milla, 2017). Estudios en diversos cultivos han encontrado un grupo de rasgos convergentes en cultivos no relacionados genéticamente, conocido como síndrome de domesticación (Harland 1985; Denham et al 2020). Los rasgos incluidos en el síndrome de domesticación son cambios en la dehiscencia, latencia de la semilla, arquitectura de la planta, incremento en el número y tamaño de semillas y frutos (Meyer, 2012) y aquellos que han sido observados en plantas pertenecientes a cultivares de diversas familias como Poaceae (pastos), Cucurbitaceae (Calabaza, pepino), Solanaceae (jitomate, chile, berenjena; Milla, 2014; Turcotte, 2015). El síndrome de domesticación es una excelente herramienta porque permite examinar el número y la magnitud del cambio en rasgos fenotípicos relacionados con la adaptación a ambientes agrícolas. Sin embargo, ha sido cuestionado porque la variación en rasgos morfológicos y de historia de vida en algunos linajes es difícil de evaluar. De este modo, es necesario continuar la examinación de más cultivares.

Un desafío para comprender el síndrome de domesticación es entender la evolución de los atributos que no han sido objetivo de selección artificial, porque aquellos rasgos son a menudo ignorados durante el proceso de domesticación. Se espera que los rasgos no seleccionados evolucionen bajo domesticación porque están bajo el control de genes que también controlan el atributo seleccionado (ejemplo, pleiotropía), porque la selección ejercida para incrementar el tamaño de fruto produce un incremento en tamaño en la totalidad de la planta (Hurtado *et al*, 2013). Debido a que la intensidad de selección esperada es más intensa sobre atributos de selección comparada con atributos correlacionados, podríamos esperar hallar bajas tasas de cambio en atributos correlacionados y no correlacionados. Como la diferencia observada en frutos de plantas seleccionadas, donde los frutos y formas muestran una notable divergencia en relación a su ancestro silvestre, mientras que otros órganos son menos divergentes, o no hay cambio.

Consecuentemente, el síndrome de domesticación es el resultado de atributos modificados a tasas de evolución variables. Así para conocer la magnitud de la selección bajo domesticación es necesario examinar el grado de variación en diferentes caracteres de la planta para entender las consecuencias evolutivas de la domesticación sobre los fenotipos de los cultivares y proveer información útil a los cultivadores de plantas acerca de la arquitectura del fenotipo de las plantas.

El Chile, *Capsicum annuum* L. (número cromosómico $2n = 2x = 24$), es una planta solanácea de importancia económica y un sistema que ha sido empleado para el estudio de varios procesos biológicos como la resistencia a virus de plantas, genética, transcriptómica y evolución fenotípica del fruto (Taitano, 2018). *C. annuum* var. *glabriusculum* es el pariente silvestre de todas las variedades de *C. annuum* cultivadas en México, India y otros países donde se ha convertido en un ingrediente fundamental de sus cocinas (Aguilar-Meléndez, 2021). *C. annuum* var. *glabriusculum* es nativo de América del Norte y Central; la evidencia arqueológica sugiere que se ha cultivado en México durante más de 3,000 años, y el aumento en la masa de semillas sugiere que esta planta ya fue objeto de domesticación alrededor de 3,500. Esta selección y reproducción ha sido manipulada por humanos a largo plazo para adaptarse a los entornos locales. Los requisitos de procesamiento únicos y las necesidades de los consumidores han dado como resultado una extraordinaria diversidad de chiles en todo el mundo. En México se han reconocido más de 60 variedades bien diferenciadas pertenecientes a *Capsicum annuum* y otras en distintas fases del proceso de domesticación han sido identificadas por botánicos (Valenzuela, 2022). A pesar de la relevancia mundial de esta planta, la mayoría de los estudios se han centrado en comprender las bases subyacentes de la evolución del fruto, lo que contrasta con el conocimiento sobre los cambios en otros órganos, como flores, hojas y rasgos de crecimiento que acompañaron el proceso de selección artificial (Chen et al., 2019). El estudio detallado de caracteres no seleccionados en plantas es relevante para comprender el papel de la domesticación sobre caracteres que son críticos para el funcionamiento de la planta en ambientes agro-ecológicos, como las hojas o las flores o la defensa contra insectos (ver Serrano Mejía et al., 2022 para un ejemplo).

El objetivo principal de este estudio es examinar la divergencia morfológica del fenotipo cultivado en relación al silvestre por medio de fenotipificación de rasgos vegetativos y reproductivos de caracteres. Este estudio es novedoso porque por primera vez se analiza de forma multivariada rasgos de talla, y morfología que incluye, tallo, hojas, flores y frutos de cultivares y una variedad silvestre de *Capsicum annuum*. Predecimos que detectaremos una variación discontinua en rasgos morfológicos e individuales por variedad y probablemente por individuo. Así como una completa separación entre plantas silvestres y cultivadas en el análisis de la variación fenotípica.

Además, se espera que haya una divergencia clara en la morfología de los frutos, mientras que la divergencia se incrementará en los rasgos vegetativos. Finalmente se espera un desacoplamiento de los caracteres vegetativos y reproductivos, lo que favorece la evolución independiente de caracteres (Rausher 1999) y posibles tasas de evolución variables.

MATERIAL Y MÉTODOS

Sistema de Estudio.

El género *Capsicum* es genética y morfológicamente diverso, está compuesto por más de 36 especies, de las cuales solo cinco han sido domesticadas (Moscone *et al.*, 2007; Eshbaugh., 2012) *Capsicum annuum*, *C. baccatum*, *C. chinense*, *C. frutescens* y *C. pubescens*. De estas cinco especies domesticadas, *Capsicum annuum* variedad *annuum* es la más diversa e importante económicamente a nivel global, ya que sus cultivos crecen en casi todas las regiones templadas y tropicales del mundo (Bosland y Votava., 2012; FAO., 2019). *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*, la forma silvestre, es un arbusto de carácter perenne que crece bajo sombra en áreas que comprenden desde el sureste de Estados Unidos hasta Colombia (Bosland, 1992), mientras que *C. annuum* var. *annuum*, es la forma domesticada con una gran diversidad morfológica. *C. annuum* var. *annuum* ha sido exitosamente cultivado por su adaptabilidad a diferentes condiciones ambientales, diversidad de hábitos de crecimiento, maduración y atributos de los frutos como (picor, tamaño, color y forma) además de la significancia socio cultural y culinaria para diferentes culturas (Hayman *et al.*, 2008; Bosland y Votava., 2012) y su mejorada composición nutricional y sustancias bioactivas (Reifschneider *et al*; 2008, Kim *et al*; 2014).

Material vegetal.

Las plantas silvestres de *C. annuum* var. *glabriusculum* se obtuvieron a partir de semillas germinadas de frutos colectados en San Pedro de la Cueva, Sonora. Los cultivares domésticos utilizados fueron chile serrano, chile de árbol, yahualica, güero santa fe, pimiento morrón y jalapeño. Todas de la marca Vita rancho los molinos (Tepoztlán, Morelos. México). Se sembraron un total de 15 (n= 105) semillas de cada cultivar en charolas plásticas con 50 orificios de 10 cm de profundidad por 5 cm de diámetro, rellenos con una mezcla de suelo estéril Berger BM2, (Saint-Modeste, QB, Canadá). Cada semilla se sembró a una profundidad de 3 a 6mm. Las charolas se colocaron en un cuarto con condiciones controladas de luz y temperatura (fotoperiodo 14:10 horas, temperatura 25 ± 2°C) en el laboratorio de Genética Ecológica y Evolución de la Facultad de Ciencias, UABC (condiciones). El trasplante a macetas plásticas (de 16.5 cm de alto por 21 cm de diámetro) se realizó cuando ya tenían la quinta hoja verdadera, usando el mismo tipo de sustrato (Berger, BM2).

Diseño experimental.

Las plantas se colocaron dentro un invernadero con luz natural y temperatura ambiental siguiendo un diseño experimental de jardín común. El diseño de Jardín común homogeneiza la variación ambiental, de tal forma que las diferencias fenotípicas observadas entre los diferentes genotipos (variedades) se atribuye a la variación genética que existe entre ellas (Falconer y Mackay 1997). Para este diseño, las macetas se distribuyeron de forma aleatoria en 5 mesas, a espacio de cinco centímetros por maceta, para evitar la sombra entre plantas. El riego se llevó a cabo *ad libitum* para evitar efectos del estrés hídrico. Se fertilizó una vez por semana con una solución de nutrientes a base de NPK (19-19-19, 2 gr/L). De igual forma, se administró insecticida foliar Beleaf (Flonicamid, Fmc Agroquímica) para controlar la presencia de plagas de áfidos y mosquita blanca.

Medición de caracteres

Los caracteres cuantitativos se midieron en plantas bien desarrolladas silvestres y cultivadas que no presentaron pérdidas excesivas de hojas, flores y/o frutos. La longitud del tallo fue medida una vez por semana, de la base de la planta a la punta del tallo, y la altura a la primera bifurcación fue medida de la base del tallo a la primera bifurcación (como indicador del comienzo de la reproducción). Cuando las plantas comenzaron a presentar esta bifurcación. Ambas medidas fueron tomadas con un flexómetro antes de que comenzara la etapa reproductiva (inicio de la floración). El diámetro del tallo se midió en la base del tallo de la planta, cerca del suelo, con un vernier digital (± 0.1 mm; Mitutoyo). Finalmente se contaron el número de hojas, número de flores y de frutos (Tabla 1).

Tabla 1. Caracteres medidos en la parte vegetativa en cultivares domesticados y variedad silvestre.

Caracteres	Descripción
Altura de la planta	A nivel de suelo hasta la parte más alta de la planta
Altura a la primera bifurcación	Tomada a nivel de suelo hasta el comienzo de la primera bifurcación del tallo
Diámetro del tallo	Tomado a nivel del suelo

Mediciones de hojas.

Se colectaron tres hojas maduras por cada planta correspondiente a cada una de los cultivares domésticos y la variedad silvestre (n= 318). Las hojas fueron digitalizadas empleando un scanner (Cannon Lide 220 LC4800P) una resolución de 300 dpi con un escáner marca) y las imágenes fueron analizadas con el programa de analysis de imágenes WinFolia (Regent Instruments Inc.,

Quebec, Canadá). los caracteres medidos se describen en la tabla 2. WinFOLIA es un sistema de análisis de imágenes por computadora que realiza mediciones morfológicas precisas en hojas (Pyakurel, 2014) y que ha sido empleado para el estudio de especies silvestres y cultivadas (Valenzuela, 2019)

Tabla 2. Caracteres medidos en las hojas de cultivares domesticados y variedad silvestre de *C. annuum*

Caracteres	Descripción
Perímetro	Perímetro de la hoja (incluyendo el pecíolo)
Área foliar	Área de la hoja (sin incluir pecíolo)
Longitud vertical	Longitud vertical de la hoja desde la base hasta la punta
Ancho horizontal	Máximo ancho horizontal de la hoja de margen a margen
Coefficiente de forma	Coefficiente de la morfología de la hoja
Proporción A/L	Ancho horizontal / longitud vertical
Área del pecíolo	Área que abarca el pecíolo
Longitud del pecíolo	Longitud hasta la unión con la hoja
Longitud de la hoja	Desde la unión del pecíolo con la hoja al ápice
Lóbulo angular 1	A partir de la primera longitud tomada de la hoja
Lóbulo angular 2	A partir de la segunda longitud de la hoja
Número de hojas	Número total de hojas

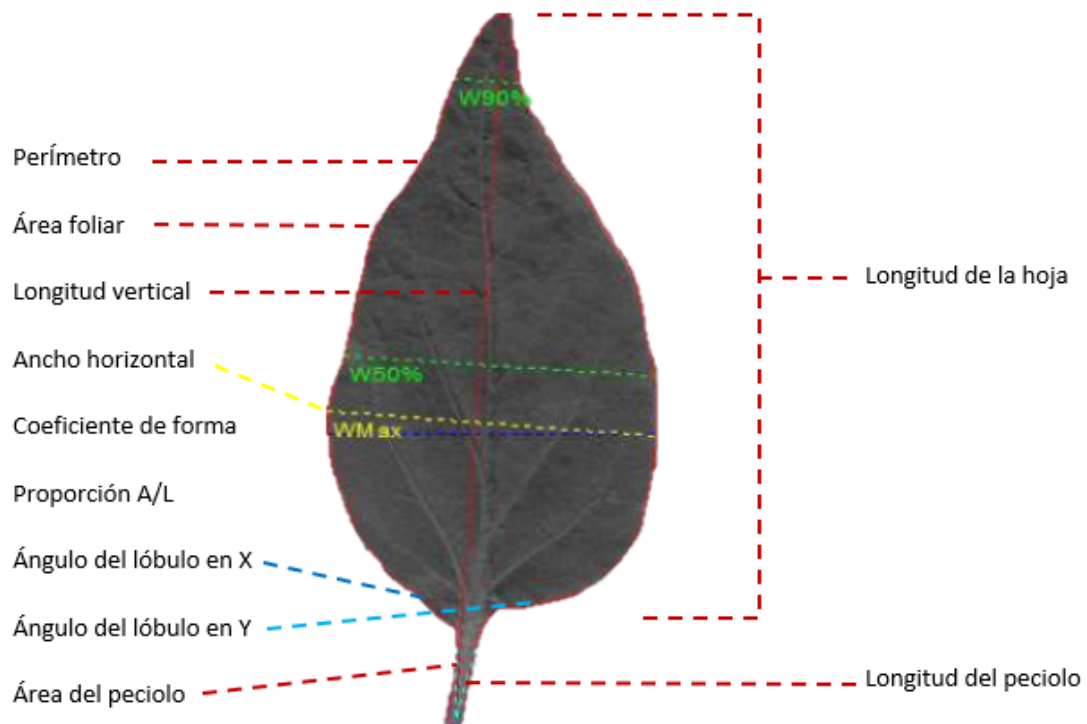


Figura 1. Caracteres medidos en las hojas de cultivares domesticados y la variedad silvestre de *Capsicum*.

Medición de caracteres florales

Se eligieron y midieron 3 flores por planta de cada cultivar doméstico y la variedad silvestre (n= 285). Solo se eligieron las flores con los pétalos suficientemente abiertos para poder medir el diámetro de extremo a extremo, es decir, la longitud de corola (figura 3). Los caracteres medidos fueron longitud de estambres y estigma, hercogamia (separación entre anteras y estigma), diámetro de corola, largo, ancho de pétalos y número de pétalos. Todas las mediciones se realizaron manualmente con un calibrador Vernier digital Mitutoyo (absolute AOS Digimatic) y se describe con detalle cómo se realizaron las mediciones en la siguiente tabla.

Tabla 3. Caracteres florales seleccionados en flores de cultivares domésticos y variedad silvestre.

Caracteres	Descripción
Diámetro de corola	Distancia de la punta de un pétalo hasta la punta en el otro extremo
Largo de la flor	Distancia desde la parte inferior del ovario hasta la punta del estigma
Largo del estigma	Distancia desde la base hasta la porción superior del estigma
Largo de antera	Distancia desde la base del estambre hasta la parte superior de la antera
Hercogamia	Distancia entre la antera y el estigma
Longitud de pétalos	Distancia desde la unión con la flor hasta su porción distal
Ancho de pétalos	Ancho máximo en la parte media de los pétalos

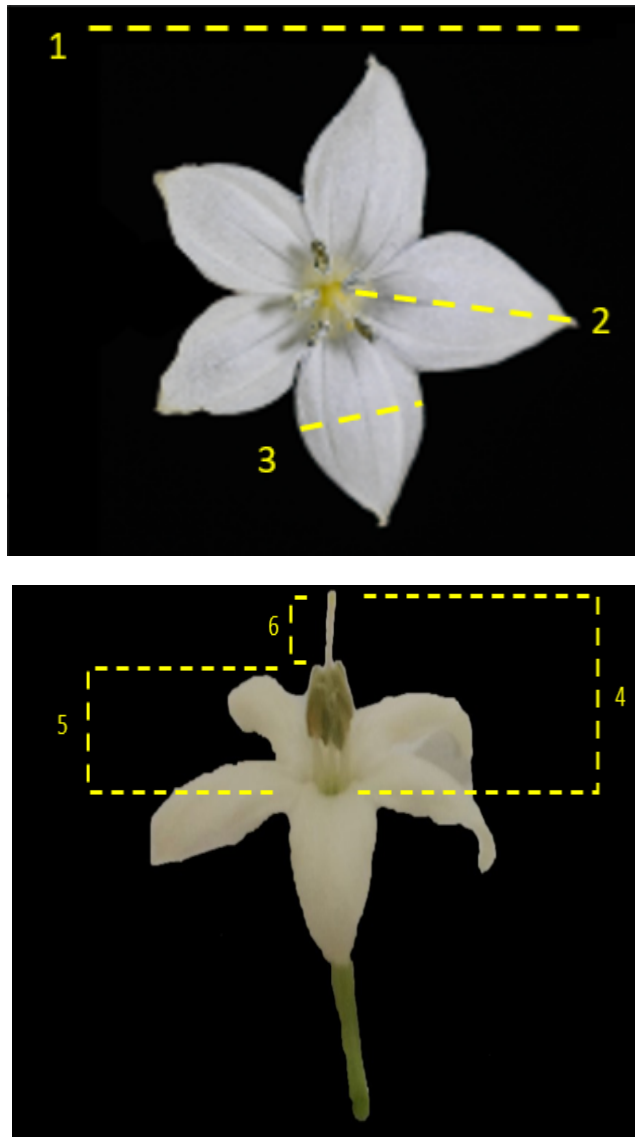


Figura 2. Mediciones realizadas en caracteres florales en cada una de los cultivares domesticados y variedad silvestre. 1) Diámetro de corola.

Medición de frutos.

Se colectaron cinco frutos maduros de diez plantas por cada cultivar doméstico y la variedad silvestre (n=302; figura 1). Se eligieron frutos de plantas de la misma altura, para evitar variaciones en el tamaño y etapa de maduración. Los frutos se cortaron y se guardaron en bolsas de papel.

Para realizar las mediciones digitales separamos el pedúnculo del fruto y se hizo un corte longitudinal en cada uno de los frutos recolectados. Los frutos fueron digitalizados en un scanner Hewlett Packard, Scanjet 2400 (Palo alto, California, Estados Unidos) a una resolución de 300 DPI. Las imágenes digitales fueron analizadas con el software Tomato Analyzer 3.0 (Ohio state University). Tomato Analyzer realiza mediciones en un rango bidimensional de parámetros relacionados con la forma del fruto. En *Capsicum annuum* es de particular interés rasgos relacionados con los bordes proximales y distales del fruto, así como las áreas de indentación (Rodríguez *et al.*, 2010). Las mediciones tomadas de cada uno de los frutos son: área, ancho máximo, máxima altura, lobulado, área y grosor del pericarpio. Después de escanear cada uno de los frutos, se extrajeron, contaron y almacenaron las semillas de cada fruto, esto se repitió con cada variedad, y se guardaron junto con el material perteneciente a la colección de germoplasma del laboratorio de Genética Ecológica y Evolución, de la Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de Baja California (UABC). Se analizaron un total de 332 imágenes.

Para los diferentes grupos de datos, se realizaron análisis de componentes principales con el fin de observar si había divergencia entre cultivares y silvestre y determinar si las variedades domesticadas se agrupaban.



Figura 3. Mediciones realizadas a los frutos de *Capsicum*, 1) Morfología básica, área y perímetro del fruto. 2) morfología interna, área del pericarpio. 3) Asimetría del fruto. Asimetría horizontal.

Tabla 4. Caracteres seleccionados relacionados con aspectos de la morfología externa e interna de los frutos de *Capsicum* medidos con Tomato Analyzer.

Caracteres	Descripción
Número de frutos	Número de frutos por planta
Perímetro	Tomado en la periferia del fruto
Área	Área del fruto
Ancho medio	Ancho medido a la mitad del fruto
Ancho máximo	La distancia máxima horizontal del fruto
Largo medio	Longitud medida a la mitad del fruto
Largo máximo	Máxima distancia vertical del fruto
Índice de forma del fruto	
Índice externo 1	Proporción de la altura máxima del fruto con el ancho máximo
Índice externo 2	Proporción de la altura media del fruto con el ancho medio
Sección latitudinal	
Grado de lobulación	Desviación estándar de las distancias desde el centro al perímetro x 100
Área del pericarpio	Relación entre el área dentro del límite del pericarpio y área del fruto
Grosor del pericarpio	El radio de la longitud media del pericarpio al promedio de la altura y ancho máximos. Calculado a partir del ancho máximo, y la altura máxima a la que se encuentra
Asimetría	
Aovado	Calculado a partir del ancho máximo, y la altura máxima a la que se encuentra
Asimetría horizontal Aovada	Distancia media entre una línea horizontal a través del fruto a la mitad de la altura y ancho medio del fruto
Asimetría ovoide vertical	Distancia promedio de una línea vertical a través del fruto a la mitad del ancho y punto medio del fruto
Asimetría horizontal ovoide	Si el área del fruto es superior sobre la altura media que por debajo de ella

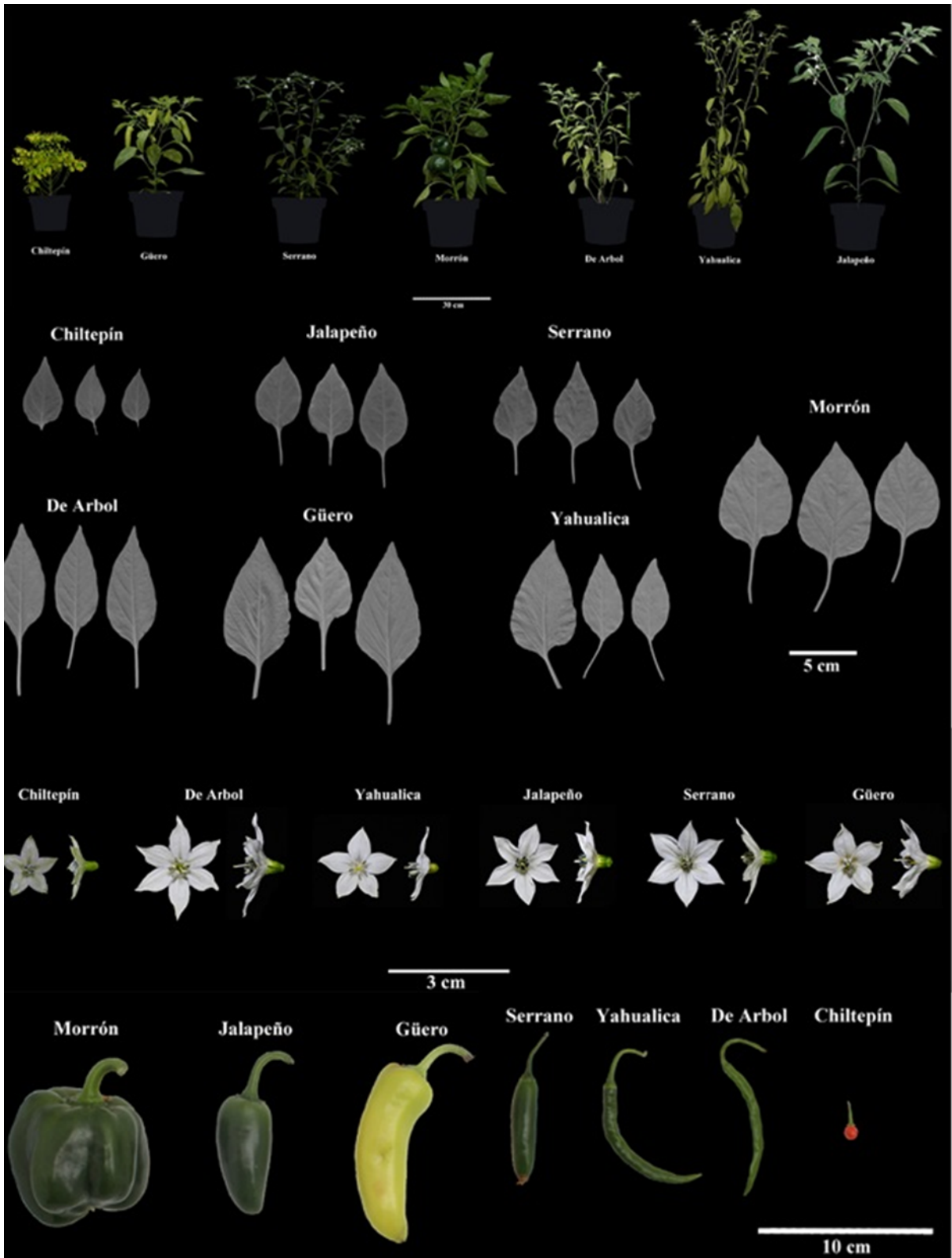


Figura 4. Cultivares domesticados y la variedad silvestre (Chiltepín) descritos en este estudio, plantas, hojas, flores y frutos.



Figura 5. Cortes longitudinales en frutos frescos de seis cultivares domesticados y silvestre de chile, Güero santa fe, Morrón, Chile de árbol, Jalapeño, Serrano, Yahuallica y chile silvestre (SPCV) analizadas con el software Tomato Analyzer.

RESULTADOS

Caracteres vegetativos

El análisis de componentes principales de los caracteres vegetativos explica el 78.5% del total de varianza con los primeros dos componentes, el componente 1 (58.4%), eje horizontal, está relacionado con caracteres de crecimiento tales como altura de la planta, diámetro del tallo a la base y altura a la bifurcación. El componente 2, que explica el 20.1 % de la varianza total, separa del resto de cultivares al chile morrón y chile güero, distribuyéndose en el cuadrante superior izquierdo. A excepción de la variedad silvestre, el resto de cultivares muestra una distribución un tanto homogénea en cuanto a los caracteres vegetativos.. En general la variación en la parte vegetativa es homogénea, se observa que presentan cierta uniformidad en cuanto a caracteres vegetativos se refiere.

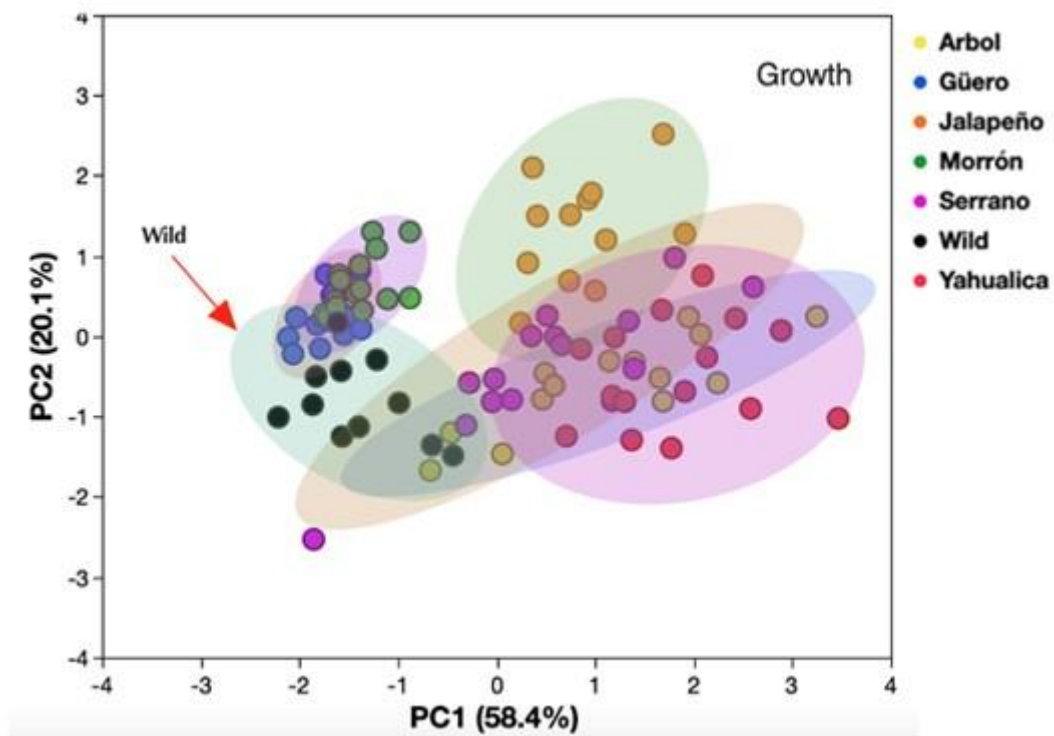


Figura 6. Análisis de componentes principales de los caracteres vegetativos.

En el análisis de componentes principales de la hoja, los primeros dos componentes explican un total del 76.4 % del total de la varianza acumulada. El primer componente explica el 54.3%, este componente está relacionado con caracteres de la dimensión de la hoja tales como longitud vertical, longitud horizontal, área foliar, perímetro (Tabla 1), indicando que es un componente de tamaño. El segundo componente explica el 22.1% de la varianza; está relacionado con caracteres de la forma de la hoja, como coeficiente de forma, proporción del aspecto de la hoja, ángulos de lobulación y de tamaño que tiene cargas opuestas en los componentes (Figura 1). La variedad silvestre (wild) se separa del resto de los cultivares domesticados y se sitúa en el cuadrante inferior izquierdo, sobre el eje X. Esta separación se da principalmente por el tamaño y forma de las hojas silvestres, que con respecto a las hojas de los cultivares presentan un menor tamaño.

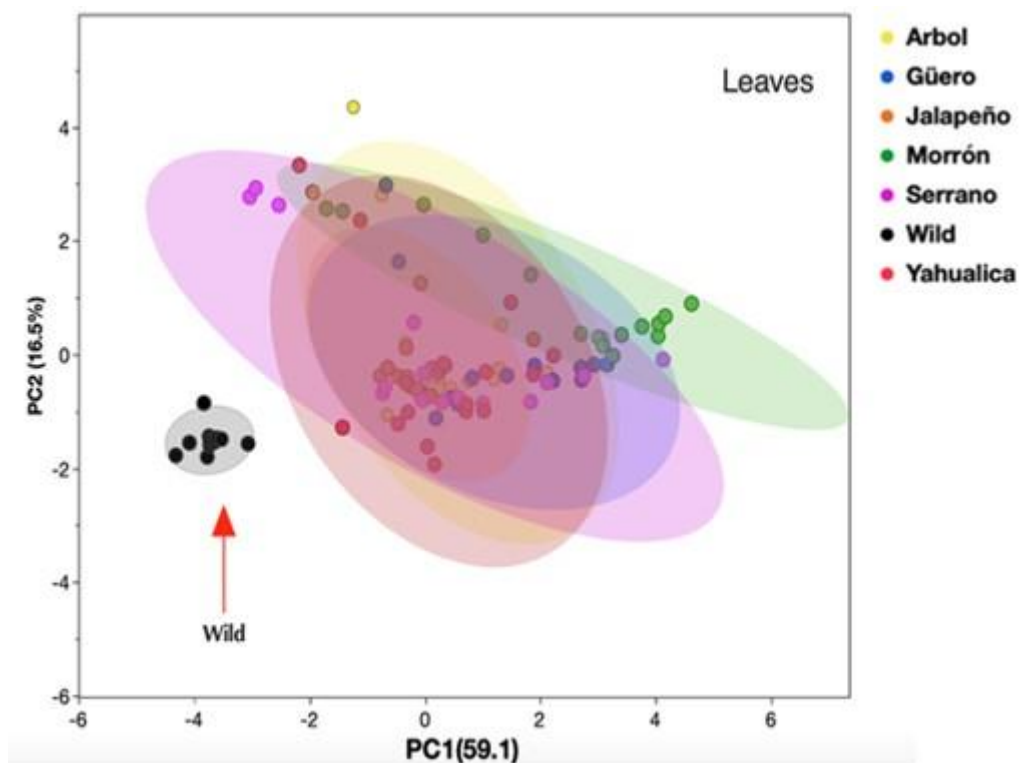


Figura 7. Análisis de componentes principales de la hoja.

Caracteres reproductivos.

Flores.

Los primeros dos componentes para los caracteres florales explican un total del 67.31 % de la varianza acumulada. El primer componente explica el 45.7%, el cual está relacionado con caracteres de la dimensión de la flor como diámetro de corola, longitud de los pétalos, ancho de los pétalos y longitud de la antera (Tabla 1). El segundo componente explica el 21.6 % de la varianza y se relaciona con la hercogamia principalmente. Dicho carácter ocurre en las plantas silvestres, y separa a las flores silvestres del resto de los cultivos. Ambos componentes, hacen que la variedad silvestre se separe del resto de los cultivares domesticados, junto con los caracteres del componente principal 1 (Figura 5, imagen 2). La variedad *árbol* y *yahualica* muestran una variación más amplia en el espacio fenotípico, mientras que las demás variedades tienen una variación fenotípica más estrecha.

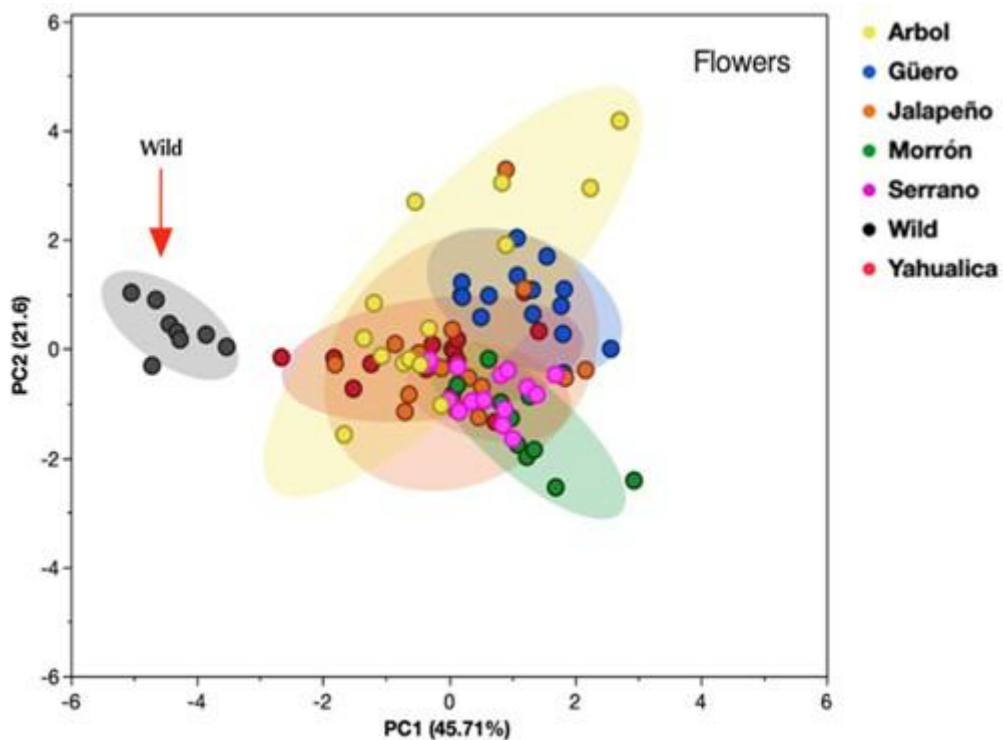


Figura 8. Análisis de componentes principales de las flores.

Frutos.

En el análisis de componentes principales de frutos, los dos primeros componentes explican un total de 74.8 % de la varianza. El componente principal 1 explica 50.3 % de la varianza, se encuentra relacionado con aspectos de la asimetría e índices de la forma del fruto, indicando que es un componente de forma. Por su parte, el componente principal 2 explica un 24.5 % de la varianza, y está relacionado con la dimensión del fruto como perímetro, área, grosor del pericarpio, ancho y largo en la porción media, indicando que es un componente de tamaño. El CP1 presenta valores positivos con caracteres como índices de la forma del fruto (I y II), altura media, altura máxima y asimetría vertical. Este componente presenta valores negativos en los caracteres perímetro, ancho medio y máximo, área y grosor del pericarpio y asimetría obovoide. (Ver Anexo). En el segundo componente principal la mayoría de los caracteres de forma y asimetría tienen valores positivos. excepto con el ancho en la porción máxima del fruto y con grosor del pericarpio. El chile morrón y la variedad silvestre tienden a distribuirse en el cuadrante superior izquierdo e inferior izquierdo respectivamente.

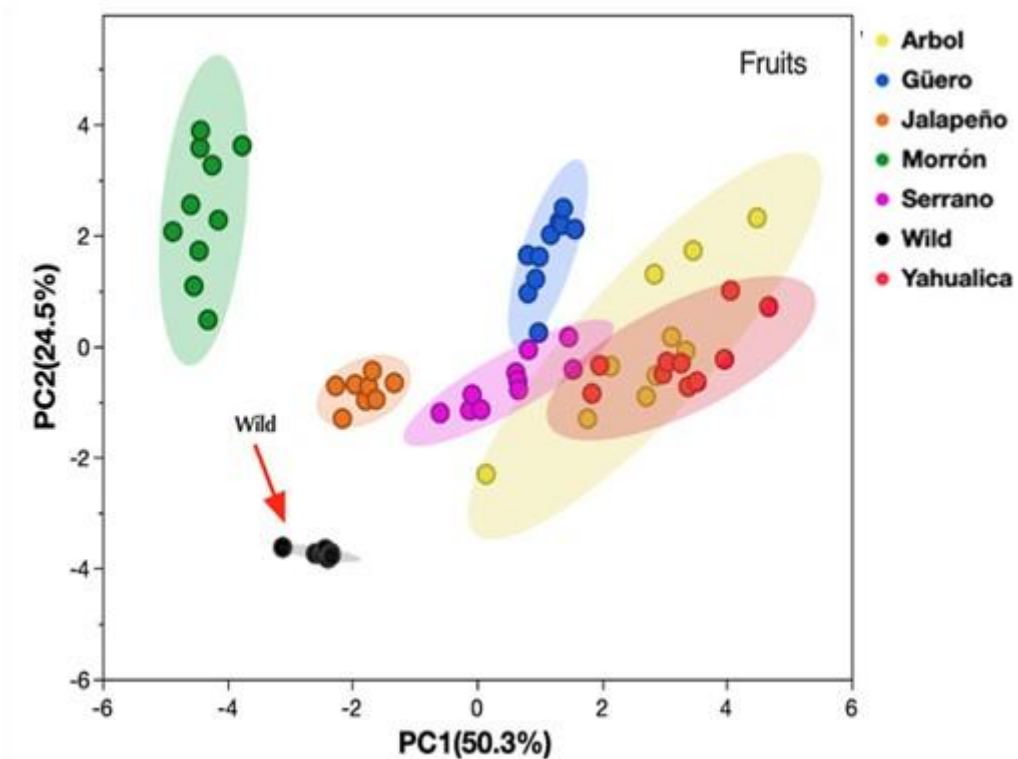


Figura 9. Análisis de componentes principales de los frutos.

Tabla 4. Eigenvalores y eigenvectores del análisis de componentes principales para los caracteres vegetativos y reproductivos.

	Carácter	CP1	CP2	
Crecimiento	(altura)	0.60	-0.05	
	Diámetro del tallo	0.41	0.82	
	Mean(número de hojas)	0.48	-0.57	
	Mean(altura bif)	0.50	-0.07	
	Varianza	58.40	20.00	78.40%
Hojas	Mean (Área)	0.40	0.15	
	Mean(Perímetro)	0.42	0.11	
	Mean(Longitud vertical)	0.30	0.25	
	Mean(Ancho horizontal)	0.39	0.13	
	Mean(Coeficiente de forma)	-0.28	0.20	
	Mean(Proporción)	-0.02	-0.45	
	Mean(Longitud del peciolo)	-0.16	0.57	
	Mean(Longitud de la hoja)	0.41	0.15	
	Mean(Lóbulo angular 1)	-0.19	0.52	
	Mean(Lóbulo angular 2)	-0.36	0.16	
	Varianza	54.30	22.10	76.40%
Frutos	Mean(Perímetro)	0.00	0.47	
	Mean(Área)	-0.18	0.42	
	Mean(Ancho medio)	-0.27	0.33	
	Mean(Ancho máximo)	-0.23	0.39	
	Mean(Largo medio)	0.23	0.33	
	Mean(Largo máximo)	0.22	0.39	
	Mean(Índice de forma del fruto.1)	0.34	-0.01	
	Mean(Índice de forma del fruto 2)	0.33	0.02	
	Mean(Aovado)	0.24	0.01	
	Mean(Asimetría vertical)	0.29	0.16	
	Mean(Asimetría horizontal aovada)	0.33	0.12	
	Mean(Ancho a la porción media)	-0.20	0.01	
	Mean(Grado de lobulación)	0.33	0.02	
	Mean(Área del pericarpio)	-0.28	0.12	
	Mean(Grosor del pericarpio)	-0.19	-0.16	
	Varianza	50.30	24.53	85.07
Flores	Mean(Diámetro de corola)	0.48	-0.05	
	Mean(Longitud estigma)	0.28	0.66	
	Mean(longitud antera)	0.43	0.20	
	Mean(Hercogamia)	-0.20	0.54	
	Mean(Longitud pétalos)	0.48	-0.02	
	Mean(Ancho pétalos)	0.43	-0.08	
	Mean(Número pétalos)	0.21	-0.47	

Varianza	45.70	21.70	67.40%
----------	-------	-------	--------

Discusión

En este estudio se evaluó si existe una divergencia entre el fenotipo vegetativo y reproductivo de chiles silvestres *Capsicumm annum* var. *glabriusculum* y cultivados mexicanos *C. annum*, identificando cuáles son los caracteres que están contribuyendo a esa divergencia. Los resultados de este trabajo mostraron una clara divergencia del fenotipo del fruto entre el chile silvestre y los chiles domesticados. La morfología de los frutos separó claramente al fenotipo silvestre del grupo de los chiles domesticados, tanto por tamaño como por forma. Por su parte, las variedades domesticadas también se pueden distinguir entre ellas en el espacio fenotípico con base en la morfología frutal, siendo distintivos los rasgos que guardan una relación entre longitud y ancho. La divergencia más conspicua es la del chile morrón, que se caracteriza por ser un fruto ancho y mostrar una amplitud homogénea (blockiness), distinguiéndose claramente de su pariente silvestre y de los frutos alargados o cónicos.

Estudios previos en este grupo de chiles han encontrado resultados similares, apoyando particularmente la idea de que el tamaño y la forma de los frutos de chile cultivado han divergido del silvestre en tamaño y forma (Milla et al., 2015). Se conoce que la forma de los frutos de *Capsicum* está bajo control genético (Paran y Van der Knaap 2007). Estudios posteriores a nivel genómico han detectado fuertes señales de selección sobre los genes que controlan la forma del fruto, tanto sobre frutos largos y frutos robustos (Valenzuela et al., 2020; Cao et al., 2022). Un estudio reciente enfocado a chiles mexicanos realizó cruza entre una población de un chile silvestre y un cultivado (puya), y encontró que la variación en el tamaño y las irregularidades de la base del fruto son determinados por genes reguladores que influyen sobre la lobulación del fruto durante el desarrollo (Diaz-Valenzuela, 2020). Estos estudios confirman que los rasgos morfológicos detectados en este estudio son resultado de la domesticación y además sugieren que las morfologías divergentes surgieron de forma independiente de forma consciente al seleccionar diferentes características convenientes a preferencias culturales y culinarias (Cao et al 2022).

El objetivo de este trabajo fue determinar la ocurrencia y variación en la magnitud en la tasa de cambio de otros órganos de las plantas, y evaluar la influencia de la selección sobre el fruto en la expresión fenotípica de otros rasgos. Los resultados mostraron que el incremento frutal tiene un efecto mayor que en la divergencia de *C. annum*. Este efecto se extiende a otros órganos de la planta, indicando la relevancia implicados en el tamaño en todos. Sin embargo, en el caso de otros órganos no es tan claro.

Por ejemplo, el incremento del tamaño de la flor y números de pétalos tienen efectos mayores en la segregación de las diferentes variedades de *C. annuum*. La corola de las plantas silvestres está conformada de cinco pétalos de tamaño reducido, mientras que en plantas cultivadas se observan corolas de mayor tamaño, y en algunas con corolas de 6 pétalos. La presencia de un pétalo en la corola es un factor claramente divergente de la forma silvestres. Se conoce que los genes MAD box regulan el desarrollo floral, y en *Capsicum*, se han descrito genes MAD box reguladores del fenotipo floral (Gan et al., 2022), siendo estos genes candidatos para explicar el incremento en el número de pétalos. Sin embargo, se necesita un estudio de expresión que permita determinar el efecto de la domesticación en estas flores. Por el momento, esta es una hipótesis para ser puesta a prueba.

En relación al tamaño floral, una explicación es que la selección correlativa promueva un incremento sobre la flor. Análisis fenotípicos previos en *Capsicum annuum* indican que existe una gran correspondencia entre genes que controlan el tamaño y morfología del fruto (*fsi=alargamiento del fruto*) y aquellos que controlan rasgos florales en variedades cultivadas de esta especie (Cao et al., 2022). Cao y colaboradores (2022) detectaron señales de selección sobre dichos genes, apoyando la idea de que la selección para el alargamiento del fruto, posiblemente son los responsables del incremento del tamaño de la flor observado en este estudio. Incluso se han encontrado genes que controlan hormonas implicadas en el crecimiento de las plantas y se expresan en diferentes órganos, como raíz y tallo, explicando porque las plantas domesticadas tienden a alcanzar tallas más grandes en muchos de sus órganos. Nuestros resultados concuerdan con la evidencia que indica que hay genes de efectos pleiotrópicos que se expresan en fruto y flor y que tienen un papel importante en el tamaño.

Hojas.

Los resultados de este estudio demuestran claramente que la domesticación ha promovido una diferenciación foliar en términos de tamaño y forma. El coeficiente de forma y ángulos de lobulación, así como el incremento abrupto del área foliar en *C. annuum*, fueron los rasgos distintivos de efectos mayores que explican la separación del grupo domesticado de su pariente silvestre (figura 2). Los resultados de este estudio concuerdan con previos estudios donde se ha encontrado que el área foliar muestra un amplio incremento en las plantas domesticadas (Milla et al., 2014; Milla et al., 2017; Munguia-Rosas et al.; 2019). Milla y colaboradores (2014), compararon plantas silvestres y cultivadas de seis especies, y encontraron que en 5 de ellas las plantas domesticadas presentaron un área foliar significativamente mayor que sus contrapartes

silvestres, apoyando la idea de que las plantas bajo domesticación sufren un incremento en el tamaño de la hoja, aun y cuando no son sujetas de selección artificial.

La hoja es un órgano de las plantas que puede modificarse de manera intencionada y no intencionada durante la domesticación (Munguía et al., 2019; Bernal-Ramírez; 2020). En *Capsicum annuum* no se ha documentado que la hoja, la flor u otro órgano hayan sido sujetos de selección artificial, lo que sugiere que la selección para incrementar el tamaño del fruto promovió un incremento a nivel de toda la planta (Milla & Matesanz 2017). Una explicación morfo-funcional sugiere que la selección dirigida hacia la producción de frutos más grandes, requiere de una mayor tasa fotosintética y fenotipos que asignen más biomasa a hojas y tejidos que favorecen la producción de frutos más grandes (Milla *et al.*, 2014; 2017). Desafortunadamente no tenemos datos que apoyen esta idea, sin embargo, en nuestro sistema de estudio, todas las hojas de los cultivares presentaron un mayor tamaño de hoja a comparación de la variedad silvestre, apoyando la divergencia como resultado de la selección del fruto.

En línea con la idea de que el gigantismo ocurre en plantas que sufren selección artificial en sus frutos, los resultados de este estudio mostraron que la domesticación promovió un incremento en la talla de la mayoría de los caracteres vegetativos. Aunque se detectaron variaciones en la altura de la planta, el ancho del tallo, el número de hojas, la mayoría de las variedades domesticadas alcanzaron una talla mayor que las plantas silvestres. Esta evidencia no es rara, previos estudios han detectado que, bajo un régimen de domesticación, las plantas comúnmente tienden a incrementar su tamaño (Pickersgill, 2007; Milla et al., 2014; Vico et al., 2016; Milla & Matesanz, 2017) en función de las adaptaciones a las nuevas condiciones ecológicas locales, de cultivo y a las necesidades propias del ser humano (Hernández-Verdugo, 2018). En general, los individuos bajo selección artificial destinan proporcionalmente una mayor cantidad de biomasa a la producción de tejidos de soporte como raíz, tallos y pedúnculos para soportar la producción de frutos generalmente más grandes (Milla, 2017), por lo que es de esperarse la talla de las plantas domesticadas fuera mayor (Price *et al.*, 2014).

Conclusiones.

La evidencia de este estudio muestra que las plantas de Chile silvestres y domesticadas han divergido como resultado de la domesticación. En conjunto, los análisis multivariados y la varianza de los rasgos a lo largo de los ejes permiten distinguir a la variedad silvestre de la domesticada. Las plantas cultivadas producen significativamente hojas, flores y frutos más grandes que las plantas de Chile silvestres. Sin embargo, la divergencia no es igual en todos los órganos, particularmente la altura y el diámetro, algunas plantas cultivadas caen dentro del rango de las plantas silvestres, lo que apoya que la tasa de cambio difiere entre rasgos, siendo de mayor

intensidad en los frutos que en el resto de los rasgos. El aumento en el tamaño en los órganos aéreos de las plantas es una de las consecuencias de la domesticación (Milla, 2017). Ante este incremento en tamaño, se tienen que hacer ajustes en la capacidad de adquisición de recursos, ya que surgen nuevos requerimientos de tipo mecánico, metabólico y fisiológico (Milla *et al*, 2014; Turcotte *et al*, 2015; Milla, 2017). Ya que las plantas domesticadas requieren de una mayor cantidad de recursos para crecer y reproducirse, también son un excelente modelo para examinar los límites de la domesticación, tanto a nivel fisiológico como morfológico. Por ejemplo, una predicción en un estudio de estrés lumínico sería que el área foliar y sus rasgos funcionales deberían converger para reducir el costo foliar, y así conocer los límites ecológicos de la domesticación en la expresión fenotípica (Meyer *et al.*,2015).

Bibliografía:



- Aguilar-Meléndez, A., Vásquez-Dávila, M. A., Manzanero-Medina, G. I., & Katz, E. (2021). Chile (Capsicum spp.) as food-medicine continuum in multiethnic Mexico. *Foods*, 10(10), 2502.
- Ballina-Gomez, Horacio, Latournerie-Moreno, Luis, Ruiz-Sanchez, Esau, Perez-Gutierrez, Alfonso, & Rosado-Lugo, Gabriel. (2013). Morphological characterization of Capsicum annum L. accessions from southern Mexico and their response to the Bemisia tabaci-Begomovirus complex. *Chilean journal of agricultural research*, 73(4), 329-338. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392013000400001>
- Bosland, P. W., Votava, E. J., & Votava, E.M. (2012). *Pimientos: pimientos vegetales y especias* (Vol. 22). Cabi.
- Cao, Y., Zhang, K., Yu, H., Chen, S., Xu, D., Zhao, H., ... & Cheng, F. (2022). Pepper variome reveals the history and key loci associated with fruit domestication and diversification. *Molecular Plant*, 15(11), 1744-1758
- Eshbaugh, W. H. (2012). The taxonomy of the genus Capsicum. *Peppers: Botany, production and uses*, 14-28.
- F.J.B. Reifschneider, C.S.C. Ribeiro, C.A. Lopes, S.I.C. Carvalho, G.M. Henz (Eds.), *Pimentas Capsicum*, Embrapa Hortaliças, Brasilia (2008), pp. 11-14
- FAO, F. (2018). FAOSTAT statistical database.
- Gan, Z., Wu, X., Biahomba, S. A. M., Feng, T., Lu, X., Hu, N., Li, R., et al. (2022). Genome-Wide Identification, Evolution, and Expression Characterization of the Pepper (Capsicum spp.) MADS-box Gene Family. *Genes*, 13(11), 2047. MDPI AG. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.3390/genes13112047>
- Hancock, J. F. (2005). Contributions of domesticated plant studies to our understanding of plant

- evolution. *Annals of Botany*, 96(6), 953-963.
- Hancock, J. F. (2005). Contributions of domesticated plant studies to our understanding of plant evolution. *Annals of Botany*, 96(6), 953-963.
- Hernández-Verdugo, S., Dávila, P., & Oyama, K. (1999). Síntesis del conocimiento taxonómico, origen y domesticación del género *Capsicum*. *Botanical Sciences*, (64), 65-84.
- Hernández-Verdugo, S., López-España, R. G., Sánchez-Peña, P., Villarreal-Romero, M., Parra-Terraza, S., Porras, F., & Corrales-Madrid, J. L. (2008). Variación fenotípica entre y dentro de poblaciones silvestres de chile del noroeste de México. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 31(4), 323-323.
- Hurtado, M., Vilanova, S., Plazas, M., Gramazio, P., Herraiz, F. J., Andújar, I., & Prohens, J. (2013). Phenomics of fruit shape in eggplant (*Solanum melongena* L.) using Tomato Analyzer software. *Scientia Horticulturae*, 164, 625-632.
- International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI) (1995). Descriptores para *Capsicum* (*Capsicum* spp.). International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI), Rome
- Kim, S., Park, M., Yeom, S. I., Kim, Y. M., Lee, J. M., Lee, H. A., & Choi, D. (2014). Genome sequence of the hot pepper provides insights into the evolution of pungency in *Capsicum* species. *Nature genetics*, 46(3), 270-278.
- Meléndez, A. A. (2006). *Ethnobotanical and molecular data reveal the complexity of the domestication of chiles (Capsicum annum L.) in Mexico*. University of California, Riverside.
- 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., & Matesanz, S. (2017). Growing larger with domestication: a matter of physiology, morphology or allocation? *Plant Biology*, 19(3), 475-483.
- Milla, R., Morente-López, J., Alonso-Rodrigo, J. M., Martín-Robles, N., & Stuart Chapin III, F. (2014). Shifts and disruptions in resource-use trait syndromes during the evolution of herbaceous crops. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 281(1793), 20141429.
- Milla, R., Osborne, C. P., Turcotte, M. M., & Violle, C. (2015). Plant domestication through an ecological lens. *Trends in ecology & evolution*, 30(8), 463-469.
- Moles A.T., Falster D.S., Leishman M.R., Westoby M. (2004) Small-seeded species produce more seeds per square metre of canopy per year, but not per individual per lifetime. *Journal of Ecology*, 92, 384–396.
- Moscone, E.A., et al., (2007). The evolution of chili peppers (*Capsicum* - Solanaceae): a cytogenetic perspective. *Acta Hort.* 745, 137–169. <https://doi.org/10.17660/>
- Nankar, A. N., Tringovska, I., Grozeva, S., Todorova, V., & Kostova, D. (2020). Application of

- high-throughput phenotyping tool Tomato Analyzer to characterize Balkan Capsicum fruit diversity. *Scientia Horticulturae*, 260, 108862.
- Orobiyi, A., Loko, L. Y., Sanoussi, F., Agré, A. P., Korie, N., Gbaguidi, A., & Dansi, A. (2018). Agro-morphological characterization of chili pepper landraces (*Capsicum annum* L.) cultivated in Northern Benin. *Genetic resources and crop evolution*, 65(2), 555-569.
- Pereira-Dias, L., Fita, A., Vilanova, S., Sánchez-López, E., & Rodríguez-Burruezo, A. (2020). Phenomics of elite heirlooms of peppers (*Capsicum annum* L.) from the Spanish centre of diversity: Conventional and high-throughput digital tools towards varietal typification. *Scientia Horticulturae*, 265, 109245.
- Pickersgill, B. (1997). Genetic resources and breeding of *Capsicum* spp. *Euphytica*, 96(1), 129-133.
- Price C.A., Wright I.J., Ackerly D.D., Niinemets U., & Reich P.B., Veneklaas E.J. (2014) Are leaf functional traits “invariant” with plant size and what is “invariance” anyway? *Functional Ecology*, 28, 1330–1343.
- Purugganan, M. D. (2019). Evolutionary insights into the nature of plant domestication. *Current Biology*, 29(14), R705-R714.
- Purugganan, M. D. What is domestication? *Trends in Ecology & Evolution* 0, (2022).
- Purugganan, M. D., & Fuller, D. Q. (2009). The nature of selection during plant domestication. *Nature*, 457(7231), 843-848.
- Pyakurel, A., & Wang, J. R. (2014). Leaf morphological and stomatal variations in paper birch populations along environmental gradients in Canada. *American Journal of Plant Sciences*, 2014.
- Taitano, N et al. Genomewide genotyping of a novel Mexican Chile Pepper collection illuminates the history of landrace differentiation after *Capsicum annum* L. domestication. *Evol. Appl.* <https://doi.org/10.1111/eva.12651> (2018).
- Tripodi, P., & Greco, B. (2018). Large scale phenotyping provides insight into the diversity of vegetative and reproductive organs in a wide collection of wild and domesticated peppers (*Capsicum* spp.). *Plants*, 7(4), 103.

Article

Does Domestication Affect Structural and Functional Leaf Epidermal Traits? A Comparison between Wild and Cultivated Mexican Chili Peppers (*Capsicum annuum*)

Carlos Serrano-Mejía ¹, Rafael Bello-Bedoy ^{1,*} , María Clara Arteaga ² and Guillermo R. Castillo ³ 

¹ Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de Baja California, Carretera Ensenada-Tijuana 3917, C.P. Ensenada 22860, Baja California, Mexico

² Departamento de Biología de la Conservación, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE), Ensenada 22860, Baja California, Mexico

³ Facultad de Negocios Sostenibles, Universidad del Medio Ambiente, San Mateo Acatitlán, Valle de Bravo 51200, Estado de Mexico, Mexico

* Correspondence: rbello@uabc.edu.mx

Abstract: During domestication, lineages diverge phenotypically and genetically from wild relatives, particularly in preferred traits. In addition to evolutionary divergence in selected traits, other fitness-related traits that are unselected may change in concert. For instance, the selection of chili pepper fruits was not intended to change the structure and function of the leaf epidermis. Leaf stomata and trichome densities play a prominent role in regulating stomatal conductance and resistance to herbivores. Here, we assessed whether domestication affected leaf epidermis structure and function in *Capsicum annuum*. To do this, we compared leaf stomata and trichome densities in six cultivated varieties of Mexican *Capsicum annuum* and their wild relative. We measured stomatal conductance and resistance to herbivores. Resistance to (defense against) herbivores was measured as variation in the herbivory rate and larvae mortality of *Spodoptera frugiperda* fed with leaves of wild and cultivated plants. As expected, the different varieties displayed low divergence in stomatal density and conductance. Leaf trichome density was higher in the wild relative, but variation was not correlated with the herbivory rate. In contrast, a higher mortality rate of *S. frugiperda* larvae was recorded when fed with the wild relative and two varieties than larvae fed with four other varieties. Overall, although domestication did not aim at resistance to herbivores, this evolutionary process produced concerted changes in defensive traits.

Keywords: *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*; pavement cells; resistance to herbivores; *Spodoptera frugiperda*; trichomes; stomata; stomatal conductance



Citation: Serrano-Mejía, C.; Bello-Bedoy, R.; Arteaga, M.C.; Castillo, G.R. Does Domestication Affect Structural and Functional Leaf Epidermal Traits? A Comparison between Wild and Cultivated Mexican Chili Peppers (*Capsicum annuum*). *Plants* **2022**, *11*, 3062. <https://doi.org/10.3390/plants11223062>

Academic Editor: Simon Hodge

Received: 30 July 2022

Accepted: 19 October 2022

Published: 11 November 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Domestication is an evolutionary process in which plant and animal species are consciously and unconsciously modified by humans through artificial selection [1–3]. An outcome of this process is that the selection of particular traits produces dramatic changes that clearly distinguish domesticated lineages from their wild relatives [4,5]. Domestication in plants is also accompanied by changes in the environment from wild to agricultural conditions, which may act as a selective factor over other phenotypic traits, favoring phenotypes that confer an advantage under new conditions [6–8]. However, some phenotypic traits could remain similar between wild and domesticated varieties because those phenotypic traits have physiological and ecological functions that are equally relevant for survival and reproduction in natural and in agronomic conditions [9–11]. A scenario such as this predicts that some traits will, and some will not, change under domestication, depending on their relevance for plant functioning. Although domestication produces ubiquitous divergence between cultivated and wild progenitors in selected traits, its effects on functional

traits, which are not the target of selection, are scarce in the literature [11,12]. Therefore, to improve our knowledge of the adaptation of cultivars to agronomic conditions, it is necessary to examine the pattern of variation in those traits.

The leaf epidermis is the outermost layer of leaves that interacts with the external environment, and it comprises pavement cells, stomata, and trichomes [13]. The epidermal phenotype plays a critical role in the physiological and ecological aspects of wild plants and crops [14]. Among other functional roles, pavement cells and stomata actively participate in water regulation and gas exchange [15]. In turn, leaf trichomes protect plants from insects, thus acting as a functional barrier to reduce herbivore damage [16–18] while minimizing water losses by evapotranspiration and protecting the plant from UV radiation [19,20].

Studies of different plant species have shown that leaf epidermises can evolve under domestication [21]. The epidermises in cultivated varieties have diverged from those of their wild relatives in the type and number of cells implicated in the ecological functions of plants, such as reductions in the type and number of trichomes [22] or in the size or number of stomata or paved cells [23,24]. However, these modifications could be specific to some degree for each wild-cultivated system of plants. For example, Milla et al. [23] compared the size and number of stomata between the upper and lower epidermises of 24 wild-domesticated systems (pairs of plants), finding a significant reduction in stomata density in the lower epidermis and an increase in the size of stomata of the upper epidermis of domesticated leaves. Their results show a relationship between the number of leaf stomata in the upper epidermis and maximal stomatal conductance, indicating that the effects of domestication on epidermal traits were accompanied by consequences for the regulation of water evapotranspiration.

Domestication can reduce plant resistance to herbivores by affecting physical or chemical traits [9,25,26]. Evidence has demonstrated that, in most cases, domesticated varieties have a lower level of resistance than wild relatives [27–29]. Trichomes are among the resistance traits that can be modified during domestication [30]. The presence and number of trichomes can decrease abruptly in cultivars as compared to those in wild progenitors, such as tomato, sunflowers, and Chaya (*Cnidiosculus aconitifolius*) [22,31,32]. This reduction in trichome density has been found to reduce the resistance of herbivores in cultivars. A study that compared 29 wild-cultivated plant systems found that the reduction in leaf trichomes was not accompanied by a cost in resistance for all species [33]. Their results indicate that the cost of the reduction in leaf trichomes that accompanies domestication depends on particular varieties. Therefore, to assess this idea, it is necessary to examine wild-cultivated plant systems, including more cultivars in the comparison, to better understand the consequences of domestication and the generalization of its effects on the functional traits of plants.

Capsicum annuum var. *glabriusculum* is the wild relative of most Mexican chili varieties cultivated in Mexico and several varieties domesticated abroad. Archeological registries suggest that *C. annuum* var. *glabriusculum* was domesticated in north and central Mexico in about 6400 B.P. [34,35], and further selection of fruits has resulted in about 60 varieties cultivated with contrasting fruit morphologies. The wild *C. annuum* var. *glabriusculum* populations are mostly found in tropical dry forests and tropical wet forests [36]. Northwest populations are exposed to stressful conditions of herbivory and water availability that affect plant fitness [37,38], whereas, in the south, the wild chili is often found in shady areas and is perhaps less prone to hydric stress compared to northwest populations [39]. In contrast, domestication of the cultivated varieties has occurred under beneficial conditions of water supply and under a lower exposure of plants to herbivores by using pesticides compared to wild relatives under natural conditions [40], relaxing the selective pressure of herbivores on resistance. Studies of wild and domesticated varieties of *Capsicum annuum* have documented notable differences in fruit size and morphology as a result of domestication [41]. Moreover, a recent study found a relationship between fruit size and the oviposition patterns of pepper weevils [27]. However, the phenotypic divergence of vegetative traits implicated in resistance and water regulation has received less attention.

Two studies compared a single cultivated variety with its wild relative [23,33] but see [27], which limits our understanding of the broad spectrum of functional results expected in this group of plants [42].

Here, the aim of this study was to assess the impact of domestication on the epidermal traits implicated in water-use efficiency and resistance to herbivores in the wild-cultivated system *Capsicum annuum*. Stomatal density and conductance, as well as leaf trichome density and resistance to herbivores, were measured in six varieties of Mexican chili pepper and compared to its wild ancestor *C. annuum* var. *glabriusculum*. First, it was expected to find a higher density of stomata and higher water evapotranspiration in cultivated plants because cultivated plants have evolved under agronomic conditions, where they have been exposed to beneficial conditions of water availability in relation to wild relatives under natural conditions [43]. Likewise, a reduction in the density of leaf trichomes and a reduction in plant resistance to herbivores was expected in cultivated varieties as a consequence of plant domestication [27–29]. To assess the role of trichomes in resistance, variation in leaf trichome density was associated with the level of damage caused by a generalist herbivore *Spodoptera frugiperda*. This is the first study assessing how epidermal traits, critical to plant functioning, diverge between cultivated and wild varieties of *C. annuum*. These results show that plant resistance to herbivores has decreased in some cultivated varieties of *Capsicum annuum* highlighting the need to study differences in plant functioning and herbivore resistance in many varieties to better understand the outcomes and mechanisms of evolution under domestication in *C. annuum* and other plants.

2. Results

2.1. Variation between Upper and Lower Epidermal Surfaces

The results show significant differences between varieties in five out of six epidermal traits (Table 1). Moreover, the leaf-side effect was significant for five out of six traits of density or cell size, indicating that the upper and lower epidermies differed in some cell types (Table 1 and Figure 1). The lower epidermis had a higher mean density and mean cell size than the upper epidermis (Figure 1). The covariate leaf area was only significant and positive for the number of pavement cells (Table 1). The mean stomata width was the only trait that did not show significant differences between varieties and between the upper and lower epidermis.

Table 1. Univariate ANOVA of cell densities and sizes of leaf epidermis of the wild *Capsicum annuum* var. *glabriusculum* and six cultivated varieties of Mexican *C. annuum*. The sample size for cell density counts was 25 plants, and for cell size measurements, it was 19 plants. $p < 0.05$ indicates significant differences.

Trait	Source of Variation	d.f.	m.s.	F	<i>p</i>
Pavemented cell density	Variety	6	143,410.06	38.86	<0.0001
	Leaf side	1	4192.23	6.82	0.0126
	Leaf area	1	3341.12	5.43	0.0248
Stomata density	Variety	6	5377.80	8.84	<0.0001
	Leaf side	1	8183.47	80.71	<0.0001
Trichome density	Variety	6	5.60	3.19	0.0114
	Leaf side	1	2.07	7.06	0.0111
Stomata width	Variety	6	23.31	1.05	0.4
	Leaf side	1	69.38	18.80	0.0002
Stomata length	Variety	6	321.71	8.80	<0.0001
	Leaf side	1	0.26	0.04	0.8

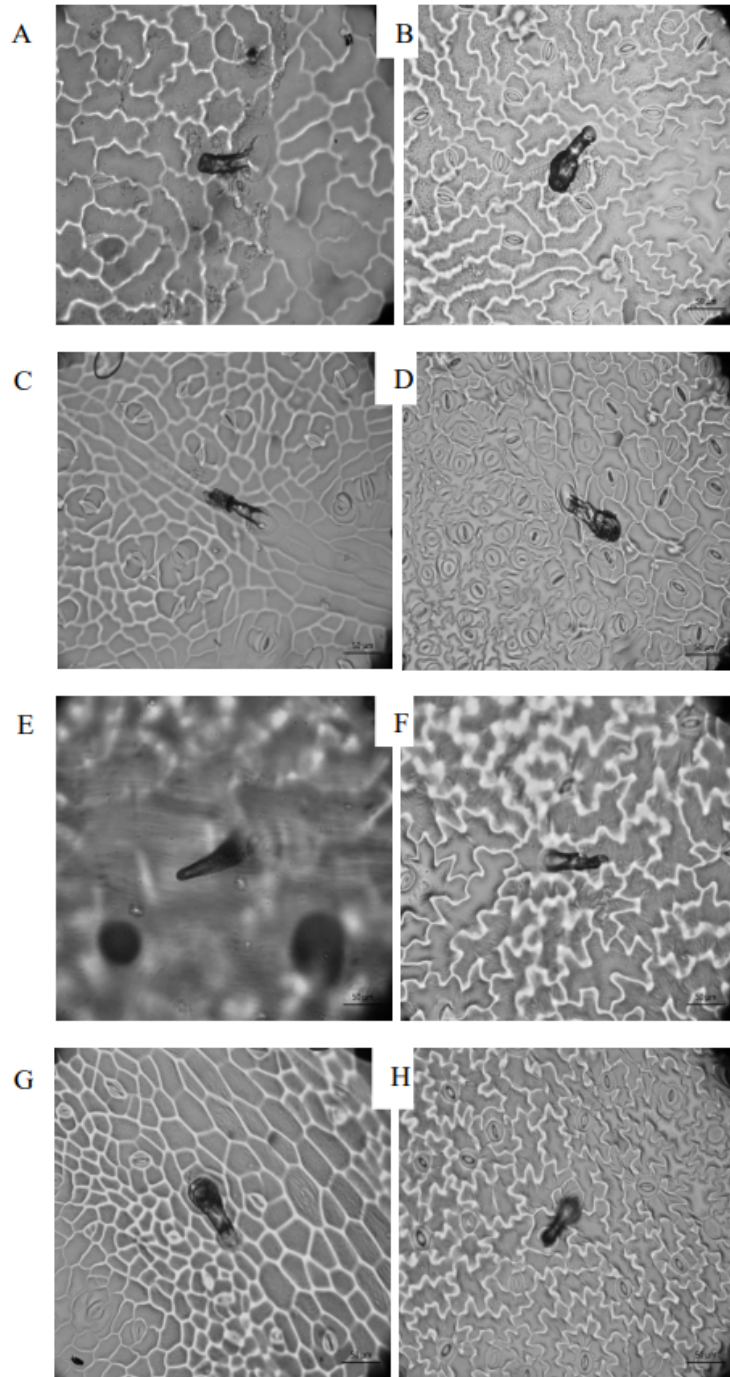


Figure 1. Epidermal cell imprints of domestic varieties (lower and upper sides) stomata and glandular trichomes in C and G. Chile de arbol (A,B), Güero (C,D), Jalapeño (E,F), and Pimiento (G,H) (40×).

2.2. Stomatal Density and Size of the Upper and Lower Epidermis

The stomatal density of the lower and upper epidermises was significantly different between the chili plants (Table 2). The stomatal density of the lower epidermis differed between the wild population and two out of six cultivated varieties, YAHU and JAL.

The mean stomatal densities of the YAHU and JAL varieties were 45% and 70% lower in comparison to the wild population (Tukey test $_{\text{lower epidermis}}$: $\alpha = 0.05$; $Q = 3.304$). In contrast, no differences in stomatal density were detected in the upper epidermis between the wild population and the cultivated varieties (Tukey test $_{\text{upper epidermis}}$: $\alpha = 0.05$, $Q = 3.304$).

The stomatal length was significantly different between the wild population and the cultivated varieties in the lower epidermis (Table 2 and Figure 1). In this case, the stomatal length of the wild population only differed significantly from that of the JAL variety, which had a 23% larger stomatal length than the wild variety (Figure 1). The stomatal length of the upper epidermis and the stomatal width of the upper and lower epidermises were not significantly different.

Table 2. Univariate ANOVA to compare the density and size of the upper and lower epidermis of the wild *Capsicum annuum* var. *glabriusculum* and six Mexican cultivated varieties.

Leaf Side	Trait	Source of Variation	d.f	s.s	F	p
Upper epidermis	Pavemented cell density	Variety	6	84,320.8	15.72	<0.0001
	Stomata density	Variety	6	1065.22	7.15	0.0005
	Trichome density	Variety	6	0.65	1.31	0.3
	Stomata width	Variety	6	20.015	0.92	0.5
	Stomata length	Variety	6	110.57	2.43	0.08
Lower epidermis	Pavemented cell density	Variety	6	91,355.631	28.6	<0.0001
	Stomata density	Variety	6	5339.69	5.75	0.0017
	Trichome density	Variety	6	7.8	2.94	0.035
	Stomata width	Variety	6	15.83	0.57	0.7
	Stomata length	Variety	6	248.89	9.19	0.0007

2.3. Stomatal Conductance

The stomatal conductance was significantly different among the different varieties ($F_{1,6} = 3.28$; $p = 0.03$; $n = 21$; $R^2 = 0.41$). The wild population had the lowest stomatal conductance value (180.52 ± 51.82 SE), whereas the YAHU variety had the highest values (478.63 ± 51.82 SE), resulting in a difference of 94% in stomatal conductance (Figure 2). The correlation between stomatal conductance and density was not significant ($r = -0.06$; $p = 0.8$; $n = 7$).

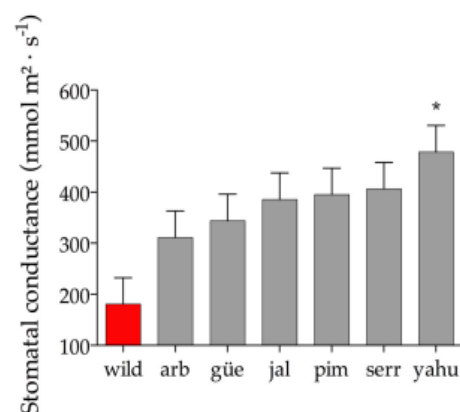


Figure 2. Univariate ANOVA was used to compare the the stomatal conductance of wild populations and cultivated varieties. Red bars indicate the mean and $1 \pm$ SE for the wild variety. Gray bars indicate the mean and SE of the cultivated varieties. The asterisks indicate which cultivated variety significantly differs from the wild variety after Tukey's HSD test ($\alpha = 0.05$).

2.4. Trichome Density in the Upper and Lower Epidermis

The foliar trichomes identified in all tested varieties were glandular and non-glandular trichomes. Glandular trichomes were observed in the wild and all cultivated varieties (Figure 1C,G), whereas non-glandular trichomes were found in the wild population and in the cultivated JAL, SERR, and YAHU (Figure 3D,E). Leaf trichome density in the lower epidermis was significantly different between chilis and the wild population (Table 2 and Figure 4). The mean trichome density of the wild population was significantly higher than that of the domesticated GÜE, SERR, and YAHU varieties (Tukey test: $\alpha = 0.05$; $Q = 3.41$). The trichome density of the upper epidermis was not significantly different among any of the varieties (Table 2).

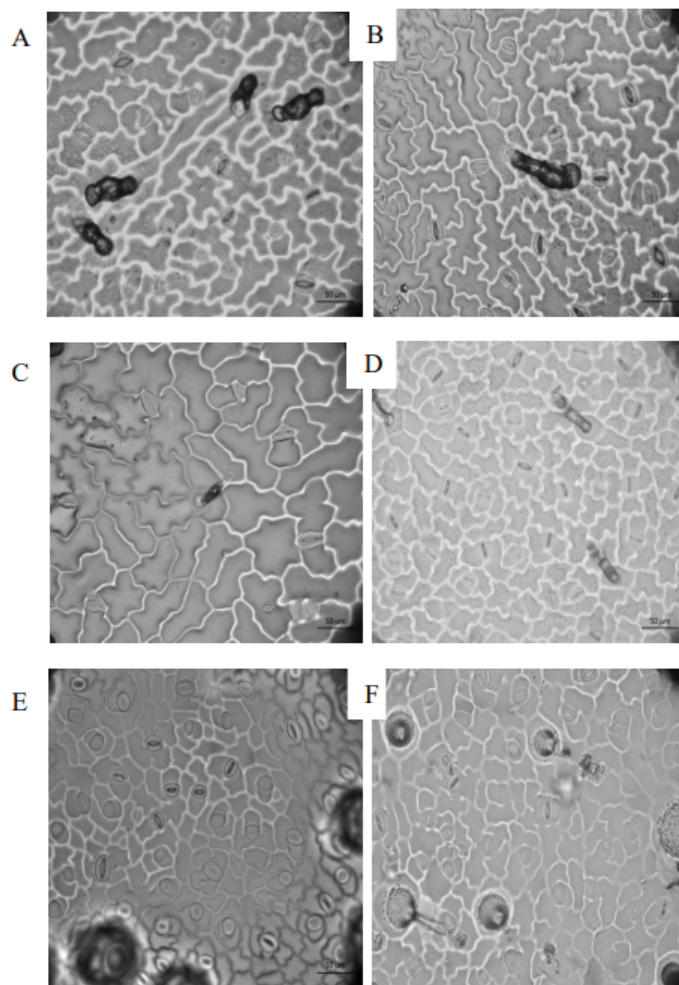


Figure 3. Epidermal cell imprints, stomata, glandular trichomes (A,B), and non-glandular trichomes (E) of domestic varieties (abaxial and adaxial), Serrano (A,B) and Yahualica (C,D), and a wild variety, San Javier (E,F) (40×).

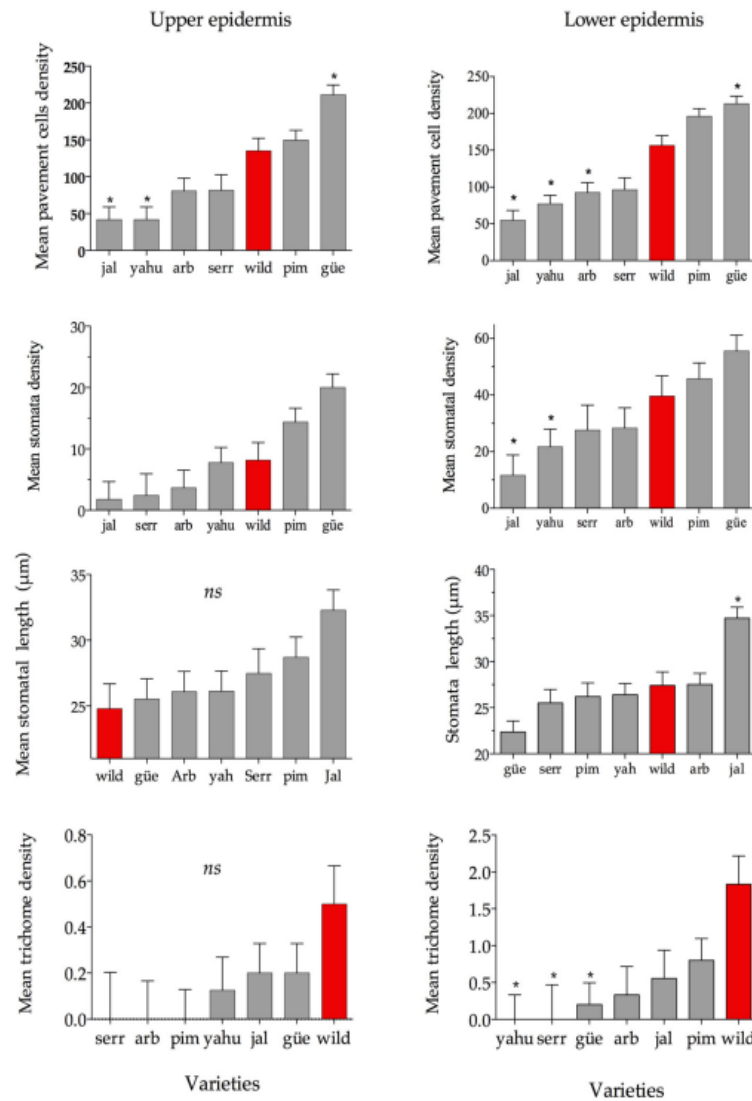


Figure 4. Independent ANOVA of the upper and lower epidermis for pavement density, stomatal density, length, and trichome density. Red bars indicate the mean and $1 \pm$ SE for the wild variety. Gray bars indicate the mean and SE of the cultivated varieties. The asterisks indicate which cultivated variety significantly differs from the wild variety after Tukey's HSD test ($\alpha = 0.05$).

2.5. Leaf Consumption Rate

The leaf area consumed by *S. frugiperda* was significantly different among varieties and wild plants ($F_{1,6} = 4.94$; $p < 0.02$; $n = 180$; $R^2 = 0.08$). Wild plants received the highest level of damage compared to cultivated varieties. The leaf area consumed by the wild variety was 43% higher than that of YAHU and 37% higher than that of the JAL varieties (Figure 5). The correlation between the consumption rate and the trichome density of the lower epidermis was not significant ($r = 0.42$; $p = 0.3$).

The larval survival of *S. frugiperda* was significantly different between cultivars and between cultivars and wild plants ($\chi^2_{L-R} = 171.22$; d.f. = 6; $p < 0.0001$; $R^2 = 0.65$; $n = 192$). The lowest survival rate was found in larvae fed with leaf tissue of the wild population and two cultivated varieties (ARB and Yahu). In contrast, survival rates in larvae fed with

tissue of other domesticated plants were higher, ranging from 100 to 95% for GÜE and PIM, and for the JAL and SERR varieties, survival was ~75%.

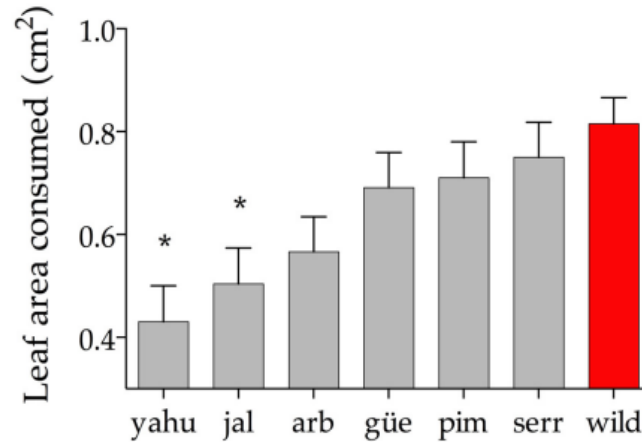


Figure 5. Univariate ANOVA was used to compare the leaf consumption rate of *Spodoptera frugiperda* of wild populations and cultivated varieties. Red bars indicate the mean and $1 \pm$ SE for the wild variety. Gray bars indicate the mean and SE of the cultivated varieties. The asterisks indicate which cultivated variety significantly differs from the wild variety after Tukey's HSD test ($\alpha = 0.05$).

3. Discussion

This study is the first multi-variety assessment of the consequences of domestication, linking the morphology of the leaf epidermis and the function of *Capsicum annuum* (L.), one of the most important crop species around the world. We included six cultivated varieties of *C. annuum* that are known to have been derived from their wild ancestor, *C. annuum* var. *glabriusculum*, to interpret the results following an evolutionary framework [34]. Domestication can produce abrupt changes, primarily increasing the size of selected traits [10]. However, this trend varies in magnitude, and in some crops, varieties show no changes in some traits even when they have relevant physiological and ecological roles in agricultural ecosystems.

This study found variation in the magnitude of the effect of domestication on epidermal phenotypes and their functions between wild populations and cultivated varieties of *Capsicum annuum*. The results reveal partial support for the effect of domestication in epidermal phenotypic traits and their function in *Capsicum annuum*. Stomatal densities showed great variation between varieties, but only two cultivated varieties differed from their wild relative. At the functional level, ample variability was found in stomatal conductance within all and the wild population, which is in line with the low differentiation in stomatal density and size. In relation to the effects of domestication on plant resistance, the wild *C. annuum* var. *glabriusculum* and two domesticated varieties had the strongest effects on herbivore survival, while four varieties caused lower or no herbivore mortality. We found higher trichome density in wild plants compared to cultivars. However, changes in trichome density did not show an association either with consumption rate by *S. frugiperda* or with herbivore survival. Overall, the patterns observed in this study show the complex effects of domestication on the leaf epidermis of *C. annuum*, suggesting that domestication may be moderate in traits that are not consciously selected.

Stomatal density and size can increase during domestication because cultivated plants are exposed to new environmental conditions, such as high water availability [44]. In particular, the densities and sizes of stomata are expected to increase during domestication if water losses are not traded off with the rate of CO₂ diffusion to the interior of the leaf [45]. We found significant variations between the wild population and varieties in

terms of stomatal density and length. However, differences in stomatal density between the wild and cultivated varieties were found only in the lower epidermis. This low-level differentiation can explain the similarities in evapotranspiration rates found between the wild and cultivated plants in this study. Although the wild variety showed the lowest rate of evapotranspiration, it only had a significant difference from one cultivated variety (the YAHU variety).

The low level of differentiation observed in stomatal density and size (i.e., length) is not rare. In agreement with our results, previous studies have found that stomatal density and length do not show a high degree of divergence between wild and cultivated varieties in the common bean, *Phaseolus vulgaris* (Fabaceae) [24]. Moreover, an assessment of 24 species found that stomatal features showed low differentiation between wild and cultivated relatives [23]. These moderate differences in the density and size of stomata between the cultivated varieties and their wild ancestor explain the absence of a correlation between stomatal conductance and stomatal density [46]. Thus, the low degree of divergence in density and size between the cultivated varieties and their wild relative can explain the similitude in stomatal conductance observed in this study as well. In this case, this evidence suggests that the agronomic conditions of water availability did not promote an increase in stomatal traits implicated in ecological functions.

The effects of domestication were more evident in leaf trichomes than in the other epidermal cells (stomatal and pavement cells). In this case, the wild plants had significantly more trichomes than the plants of three out of six cultivated varieties in the lower epidermis. As expected, the wild population had the highest density of trichomes, whereas the most dramatic change was that leaf trichomes were not detected in some cultivated varieties. Surprisingly, variation in trichome density did not correlate with the herbivory rate. Contrarily, the herbivory rates of *S. frugiperda* were higher in the leaf disks of wild plants in relation to domesticated plants. Given that wild plants had the highest trichome density, this study suggests that leaf trichomes did not effectively obstruct feeding by *S. frugiperda* larvae [47]. Previous studies have found similar evidence suggesting that changes in leaf trichome density associated with domestication did not explain the resistance to herbivores [33]. Thus, even when leaf trichomes seemed to not have an adaptive role as a component of resistance to herbivores, it remains to be tested whether trichomes provide defense for other herbivore species.

One objective of this study was to assess whether domestication reduces resistance to herbivores. Variation in mortality rate between wild and cultivated plants found in this study supports the hypothesis that domestication affects plant resistance to herbivores in *Capsicum annuum*. We found that *S. frugiperda* larvae exposed to a leaf-based diet of wild populations and two cultivars caused a dramatic survival reduction in *S. frugiperda*. In contrast, the leaf tissue of the other four cultivars had a lower impact on insect mortality. These results are comparable with evidence from a recent meta-analysis that found that insects fed with the leaf tissue of wild plants have higher mortality in relation to domesticated ones [48]. Specifically, in *Capsicum annuum*, previous studies have found similar results, supporting the notion that domestication reduces the level of resistance to herbivores as a function of insect mortality [49]. For instance, when resistance to herbivores in a wild population (i.e., Tapachula accession, not included in this study) and cultivated poblano and serrano varieties of *C. annuum* were compared, the mortality rates of *S. frugiperda* fed wild tissue were higher than those fed domesticated varieties [49]. Although resistance to herbivores decreased with domestication in four varieties analyzed in this study, wild and two cultivated chili varieties had a similar impact on insect mortality, suggesting that the cost of domestication is not equal in all species. Thus, domestication effects on plant defense largely depend on the variety and its evolutionary history, and they also need to be assessed on insects.

One caveat in this study is that we did not measure a biochemical component of resistance to herbivores. Other studies have found that leaf polyphenols affect *Spodoptera* performance [50,51], indicating the relevance of these types of compounds in resistance

to herbivores. In our case, secondary metabolites, such as polyphenols, could explain resistance to herbivores, and domestication can affect chemical resistance to herbivores in Mexican varieties of *Capsicum annuum*. Further metabolomic studies are required to compare and identify the type and number of chemical compounds responsible for the mortality of the herbivore *S. frugiperda* in wild and cultivated varieties of *C. annuum*.

This is among the few studies that have analyzed the changes in epidermal cells in different cultivated varieties as well as their functional implications. The lack of differences in the density of stomata and their conductance indicates that this trait has not been abruptly affected during the course of domestication. Second, wild plants produced significantly more trichomes than cultivars, but the trichomes did not obstruct herbivore feeding, as expected for a trait with a defensive role. In spite of this, the high survival rate of *S. frugiperda* fed with cultivated tissue indicated that domestication can have detrimental effects on plant resistance [48], but it seems that changes are occurring in secondary compounds. Traits related to water-use efficiency/CO₂ uptake and resistance to herbivores can show ample variation with no fitness cost for domesticated plants [23,43,52] possibly as a result of the relaxed selection occurring under agronomic conditions (i.e., irrigation and pesticide application). To examine the cost of domestication, further studies should expose cultivars to simulate the natural conditions of water stress and/or different levels of herbivores [53]. This will help clarify how cultivars depart from their ancestor and whether small phenotypic modifications [54], such as stomata and trichome density, associated with domestication in *Capsicum annuum* are relevant in natural environments [55].

4. Conclusions

Our results demonstrate for the first time that domestication of *C. annuum* is accompanied by changes in epidermal traits implicated in critical functional traits. We confirmed that domestication has detrimental effects on resistance to herbivores in some varieties, but the differences in leaf trichomes failed to explain variation in resistance to herbivores. Likewise, water evapotranspiration and stomata did not show dramatic changes. These findings thus have implications, which we discuss in more detail above, for understanding both the broad spectrum of functional responses expected under domestication in this group of plants and the variable consequences of domestication.

5. Materials and Methods

5.1. Plant Materials

For the experiment, we used seeds from six cultivated varieties and the wild relative *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*. Seeds of the wild *C. annuum* var. *glabriusculum* were collected during 2016 and 2017 from different natural populations and stored in a germplasm collection. To examine epidermal features, we used wild seeds collected from San Javier, Sonora, located in northwestern Mexico. Furthermore, to measure water-use efficiency and plant resistance, we also included seeds collected from two more wild populations, namely Veracruz and Tapachula, which grow under more humid conditions. Those populations were included to cover a broad spectrum of variation in stomatal conductance, water-use efficiency, and resistance to herbivores (Table 1). Seeds of the six cultivated varieties used were obtained from commercial stocks from a local market brand, Rancho Los Molinos (Mexico). The following cultivated varieties were used: *Capsicum annuum*, called “árbol” (ARB), “jalapeño” (JAL), “serrano” (SERR), “yahualica” (YAHU), “güero” (GÜE), and “morrón” (PIM). These varieties were randomly chosen, but we took care to include varieties for whom *C. annuum* var. *glabriusculum* is the common ancestor [54,55].

5.2. Plant Growth

We sowed 50 seeds per variety in germination trays filled with commercial soil (Berger BM2). All trays were placed in a germination room with a controlled photoperiod with a 14:10 h nightlight under a temperature of 25 ± 2 °C. Seedlings with four well-expanded leaves were transplanted to 4 L plastic pots filled with substrate (Berger BM2). A total

of 15 seedlings per variety were transplanted, resulting in 105 plants from the San Javier wild variety and the six cultivated varieties. The plants were randomly distributed on six benches within a greenhouse to avoid shading between plants. During the experiment, fertilization consisted of a weekly application of 50 mL of solution containing $2 \text{ g} \times \text{L}^{-1}$ N-P-K (19-19-19) on the soil of each plant. All plants were watered ad libitum to avoid the potential influence of hydric stress on the leaf epidermis. In addition, the instructions of the seed producers indicated that the plants had to be very well irrigated.

5.3. Epidermal Impressions

To examine variations in the leaf epidermis, we collected leaves from a subsample of three plants per variety brought to the laboratory from the greenhouse. From each plant, we collected five mature leaves from the middle part of the stems of each individual plant. We obtained 400 epidermal impressions from the abaxial and adaxial surfaces of the sampled leaf. Epidermal impressions were made using the nail polish method. Briefly, we applied a film of clear nail polish to the leaf surface between the second and third secondary veins, avoiding the main and secondary veins. The nail polish was left to dry for 3 min, and then we placed a piece of transparent adhesive tape on the area covered with the nail polish. We pressed the adhesive tape evenly for 1 min using a piece of cotton rag. The adhesive tape was removed using fine scissors, and the sample was placed on a slide labeled with the name of the variety and the sample number.

5.4. Cell Counts and Stomatal Measurements

To obtain the number and measurements of epidermal cells, we digitized the upper and lower epidermises on a sample of 3–5 leaves per plant using a light optical microscope Primo star equipped with an ICc5 digital camera (Zeiss, Germany). A $40\times$ magnification lens was used to obtain digital images, resulting in a visual area of 2.38 mm^2 for each sample. We counted all pavement cells, trichomes, and stomata observed in each digital image, excluding incomplete cells at the margins of images. Stomata length and width measurements were obtained from three closed stomata randomly chosen from the samples. Stoma length was measured as the distance from the upper to the lower tip of a guard cell. In turn, the stoma width was measured as the distance between the outer extremes of the two guard cells in the middle of each stoma. Cell counts and stomatal measurements were conducted using Zen lite software (Zeiss 2012).

5.5. Stomatal Conductance

Stomatal conductance was measured in a subsample of three plants per variety. Measurements were taken on a random sample of three mature leaves located in the middle part of the stem of each plant. Stomatal conductance was obtained on the upper side of the leaves using a leaf porometer (SC-1 model, Decagon Services) between 11:30 am and 12:00 pm. Plants from each variety were randomly distributed in the greenhouse. All plants were well irrigated for two days before measurements were conducted.

5.6. Insects

Spodoptera frugiperda eggs were obtained from the Laboratorio de Control Biológico, ECOSUR-Tapachula. The eggs were allowed to hatch in Petri dishes (90 mm \times 15 mm) on moist paper in a growth room (L:D 14:10 h; 26°C ; 65% RH). Larvae were then individually moved to small plastic containers in the same growth room on a corn-based diet. Third-instar and fourth-instar larvae were used for both insect consumption rates and survival tests.

5.7. Insect Consumption Rate

To determine whether domestication influences insect consumption rates, third- and fourth-instar *S. frugiperda* larvae were given leaf disks from each of the six cultivated varieties and from each wild population. Plastic Petri dishes with a 3 cm diameter \times 2 cm

depth were used as arenas. Leaves were randomly removed from cultivated and wild plants in the greenhouse and brought to the laboratory, where a hole punch (1.96 cm² diameter) was used to cut the leaf disks. One leaf disk was placed into each Petri dish, and one larva was placed into a Petri dish and allowed to feed on leaf disks for 1 h in the growth room (see above). One hour was determined to be a reasonable length of time to assess consumption rates of herbivores but short enough to prevent insects from consuming all of the leaf disks from one treatment. A total of 24 larvae were assigned to be fed per domesticated variety or wild population, resulting in 216 larvae. When a larva did not start to eat within the first 20 min, it was excluded from the experiment. This resulted in 189 larvae. At the end of the experiment, the remaining leaf disks were removed from the Petri dish and digitized to obtain the remaining leaf disk areas for each cultivated variety and wild population. The remaining leaf areas were determined using the imaging program WinFolia (Regent Instruments, USA). The remaining leaf disk areas were subtracted from the original area of the leaf disks to determine the area consumed. We did not replace larvae because of the short time elapsed in this experiment.

5.8. Survival assay of *Spodoptera frugiperda*

To test whether domestication influenced insect survival, the larvae of *Spodoptera frugiperda* were allowed to feed on leaves from cultivated and wild plants from each of the six cultivated lines and the three wild accessions. The experiment began with a sample of 216 larvae, but larvae that did not start to eat after 4 h were excluded from the experiment, resulting in a sample size of 192. Each individual larva was placed in a Petri dish fed with a 1.5 cm² leaf tissue disk of only one variety until death or pupation in the growth room (see above). The leaf disks were changed every 12 h to maintain fresh tissue. This time was determined to be a reasonable length of time to maintain fresh tissue and was short enough to prevent insects from consuming all of the leaf disks and starving. Survival (1) and mortality (0) were registered daily until the last larva died or reached the pupa stage. All larvae fed the leaf tissue of wild chili died before reaching the pupa stage.

5.9. Statistical Analyses

First, an analysis of variance (ANOVA) of the leaf size was conducted, including the variety as a fixed effect to compare the leaf size between the wild populations and cultivated varieties. Second, a univariate analysis of covariance (ANCOVA) was conducted to compare the density and size of epidermal cells among the wild populations and cultivated varieties, including the following variables: (i) pavement cell density, (ii) density of stomata, (iii) stomatal length, (iv) stomatal width, and (v) trichome density. The ANCOVA included the effects of variety, leaf side (i.e., the upper and lower epidermises), and the variety × leaf size interaction. For these analyses, data on the upper and lower epidermises were pooled. When leaf size was not significant for a specific trait, it was removed from its respective ANCOVA. Furthermore, we performed Tukey's test to assess the significant differences between the wild population and cultivated varieties.

Because the number of cells differing between the upper and lower epidermises was statistically different, we conducted independent ANOVAs for the upper and lower epidermis for the same response variables mentioned above. This model only included the effect of variety as a fixed effect. We performed Tukey's test comparisons to assess the significant differences between the wild population and cultivated varieties.

To examine the differences in stomatal conductance and consumption rate by herbivores, we conducted an ANOVA for each variable, including variety as a fixed effect. Survival among larvae was analyzed with a logistic ANOVA, including variety as a fixed effect. Data of larvae fed wild chili plants were pooled because the consumption rate ($F = 0.99$; g.l. = 5; $p = 0.4$) and survival were not different between populations.

To examine the relationship between a trait and its functional role, individual Pearson's correlation analyses were used for pairs of variables. One correlation was estimated for stomatal conductance vs. stomatal density, and another correlation was conducted for

consumption rate vs. trichome density. These correlations were performed using the mean values per variety calculated prior to the analysis. Data analysis was performed using JMP software v. 10.0 (SAS Cary, NC, USA).

Author Contributions: Conceptualization, C.S.-M. and R.B.-B.; methodology, C.S.-M. and R.B.-B.; formal analysis, C.S.-M.; investigation, C.S.-M.; resources, R.B.-B.; data curation, C.S.-M. and R.B.-B.; writing—original draft preparation, C.S.-M. and R.B.-B.; writing—review and editing, C.S.-M., G.R.C., M.C.A. and R.B.-B.; project administration, R.B.-B.; funding R.B.-B. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), grant number CB-2015-1 255631 to R.B.-B. CSM scholarship Ph.D. studies and grants were funded by CONACYT.

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: The data presented in this study are available on request from the corresponding author.

Acknowledgments: This manuscript is in partial fulfillment of obtaining a Ph.D. degree in the Doctorado en Medio Ambiente y Desarrollo-UABC (DMAYD). C.S.-M. and R.B.-B. thank the Facultad de Ciencias at UABC for the facilities for carrying out the experiments. We thank Roberto Cortez and all members of the Lab Genética Ecológica y Evolución-UABC for their technical assistance during the experiment.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript; or in the decision to publish the results.

References

1. Darwin, C. *On the Origin of Species by Means of Natural Selection or the Preservation of Favoured Races in the Struggle for Life*; John Murray: London, UK, 1859.
2. Gepts, P. Crop Domestication as a Long-Term Selection Experiment. *Plant Breed. Rev.* **2004**, *24*, 1–44.
3. Purugganan, M.D. What Is Domestication? *Trends Ecol. Evol.* **2022**, *37*, 663–671. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Purugganan, M.D.; Fuller, D.Q. The Nature of Selection during Plant Domestication. *Nature* **2009**, *457*, 843–848. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Meyer, R.S.; Duval, A.E.; Jensen, H.R. Patterns and Processes in Crop Domestication: An Historical Review and Quantitative Analysis of 203 Global Food Crops. *New Phytol.* **2012**, *196*, 29–48. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Milla, R.; Reich, P.B. The Scaling of Leaf Area and Mass: The Cost of Light Interception Increases with Leaf Size. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* **2007**, *274*, 2109–2114. [[CrossRef](#)]
7. Stetter, M.G. Limits and Constraints to Crop Domestication. *Am. J. Bot.* **2020**, *107*, 1617–1621. [[CrossRef](#)]
8. Iriondo, J.M.; Milla, R.; Volis, S.; Rubio De Casas, R. Reproductive Traits and Evolutionary Divergence between Mediterranean Crops and Their Wild Relatives. *Plant Biol.* **2018**, *20*, 78–88. [[CrossRef](#)]
9. Whitehead, S.R.; Turcotte, M.M.; Poveda, K. Domestication Impacts on Plant-Herbivore Interactions: A Meta-Analysis. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* **2017**, *372*, 20160034. [[CrossRef](#)]
10. Milla, R.; Matesanz, S. Growing Larger with Domestication: A Matter of Physiology, Morphology or Allocation? *Plant Biol.* **2017**, *19*, 475–483. [[CrossRef](#)]
11. Milla, R.; Morente-López, J.; Morente-López, J. Limited Evolutionary Divergence of Seedlings after the Domestication of Plant Species. *Plant Biol.* **2015**, *17*, 169–176. [[CrossRef](#)]
12. Roucou, A.; Violle, C.; Fort, F.; Roumet, P.; Ecartot, M.; Vile, D. Shifts in Plant Functional Strategies over the Course of Wheat Domestication. *J. Appl. Ecol.* **2018**, *55*, 25–37. [[CrossRef](#)]
13. Glover, B.J. Differentiation in Plant Epidermal Cells. *J. Exp. Bot.* **2000**, *51*, 497–505. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Carpenter, K.J. Specialized Structures in the Leaf Epidermis of Basal Angiosperms: Morphology, Distribution, and Homology. *Am. J. Bot.* **2006**, *93*, 665–681. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Haworth, M.; Elliott-Kingston, C.; McElwain, J.C. Stomatal Control as a Driver of Plant Evolution. *J. Exp. Bot.* **2011**, *62*, 2419–2423. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Levin, D.A. The Role of Trichomes in Plant Defense. *Q. Rev. Biol.* **1973**, *48*, 3–15. [[CrossRef](#)]
17. Valverde, P.L.; Fornoni, J.; Núñez-Farfán, J. Defensive Role of Leaf Trichomes in Resistance to Herbivorous Insects in *Datura Stramonium*. *J. Evol. Biol.* **2001**, *14*, 424–432. [[CrossRef](#)]

18. Watts, S.; Kariyat, R. Picking Sides: Feeding on the Abaxial Leaf Surface Is Costly for Caterpillars. *Planta* **2021**, *253*, 1–6. [[CrossRef](#)]
19. Skaltsa, H.; Vrykokidou, E.; Harvala, C.; Karabourniotis, G.; Manetasi, Y. UV-B Protective Potential and Flavonoid Content of Leaf Hairs of *Quercus Ilex*. *Phytochemistry* **1994**, *37*, 987–990. [[CrossRef](#)]
20. Huttunen, P.; Kärkkäinen, K.; Løe, G.; Rautio, P.; Ågren, J. Leaf Trichome Production and Responses to Defoliation and Drought in *Arabidopsis Lyrata* (Brassicaceae). *Ann. Bot. Fenn.* **2010**, *47*, 199–207. [[CrossRef](#)]
21. Stenglein, S.A.; Arambarri, A.M.; Vizgarra, O.N.; Balatti, P.A. Micromorphological Variability of Leaf Epidermis in Mesoamerican Common Bean (*Phaseolus Vulgaris*, Leguminosae). *Aust. J. Bot.* **2004**, *52*, 73–80. [[CrossRef](#)]
22. Munguía-Rosas, M.A.; Jácome-Flores, M.E.; Bello-Bedoy, R.; Solís-Montero, V.; Ochoa-Estrada, E. Morphological Divergence between Wild and Cultivated Chaya (*Cnidoscolus Aconitifolius*) (Mill.) I.M. Johnst. *Genet. Resour. Crop Evol.* **2019**, *66*, 1389–1398. [[CrossRef](#)]
23. Milla, R.; de Diego-Vico, N.; Martín-Robles, N. Shifts in Stomatal Traits Following the Domestication of Plant Species. *J. Exp. Bot.* **2013**, *64*, 3137–3146. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Navea, C.; Terrazas, T.; Delgado-Salinas, A.; Ramírez-Vallejo, P. Foliar Response of Wild and Domesticated *Phaseolus Vulgaris* L. to Water Stress. *Genet. Resour. Crop Evol.* **2002**, *49*, 125–132. [[CrossRef](#)]
25. Gaillard, M.D.P.; Glauser, G.; Robert, C.A.M.; Turlings, T.C.J. Fine-Tuning the ‘Plant Domestication-Reduced Defense’ Hypothesis: Specialist vs Generalist Herbivores. *New Phytol.* **2018**, *217*, 355–366. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Chen, Y.H.; Gols, R.; Benrey, B. Crop Domestication and Its Impact on Naturally Selected Trophic Interactions. *Annu. Rev. Entomol.* **2015**, *60*, 35–58. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. Chabaane, Y.; Haseeb, M.; Benrey, B. Domestication of Chili Pepper Has Altered Fruit Traits Affecting the Oviposition and Feeding Behavior of the Pepper Weevil. *Insects* **2021**, *12*, 630. [[CrossRef](#)]
28. Shlichta, J.G.; Cuny, M.A.C.; Hernandez-Cumplido, J.; Trainee, J.; Benrey, B. Contrasting Consequences of Plant Domestication for the Chemical Defenses of Leaves and Seeds in Lima Bean Plants. *Basic Appl. Ecol.* **2018**, *31*, 10–20. [[CrossRef](#)]
29. Hernández-Cumplido, J.; Rodríguez-Saona, C.; Ruíz-Rodríguez, C.E.; Guevara-Fefer, P.; Aguirre-Paleo, S.; Miranda Trejo, S.; Callejas-Chavero, A. Genotypic Variation in Plant Traits, Chemical Defenses, and Resistance Against Insect Herbivores in Avocado (*Persea Americana*) Across a Domestication Gradient. *Front. Agron.* **2021**, *2*, 34. [[CrossRef](#)]
30. Jaccard, C.; Cuny, M.A.C.; Bustos-Segura, C.; Arce, C.C.M.; Giollo, L.; Glauser, G.; Benrey, B. Squash Varieties Domesticated for Different Purposes Differ in Chemical and Physical Defense Against Leaf and Root Herbivores. *Front. Agron.* **2021**, *3*, 49. [[CrossRef](#)]
31. VanDerwarker, A.M.; Bardolph, D.N.; Hoppa, K.M.; Thakar, H.B.; Martin, L.S.; Jaqua, A.L.; Biber, M.E.; Gill, K.M. New World Paleoethnobotany in the New Millennium (2000–2013). *J. Archaeol. Res.* **2016**, *24*, 125–177. [[CrossRef](#)]
32. Bernal-Ramírez, L.A.; Bravo-Avilez, D.; Fornoni, J.; Valverde, P.L.; Rendón-Aguilar, B. Human Selection Effects on Selected and Correlated Traits in *Anoda Cristata* (L.) Schltdl. (Malvaceae). *Bot. Sci.* **2021**, *99*, 342–363. [[CrossRef](#)]
33. Turcotte, M.M.; Turley, N.E.; Johnson, M.T.J. The Impact of Domestication on Resistance to Two Generalist Herbivores across 29 Independent Domestication Events. *New Phytol.* **2014**, *204*, 671–681. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Kraft, K.H.; Brown, C.H.; Nabhan, G.P.; Luedeling, E.; De Jesús Luna Ruiz, J.; D’Eeckenbrugge, G.C.; Hijmans, R.J.; Gepts, P. Multiple Lines of Evidence for the Origin of Domesticated Chili Pepper, *Capsicum Annuum*, in Mexico. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2014**, *111*, 6165–6170. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Pickersgill, B. Domestication of Plants in the Americas: Insights from Mendelian and Molecular Genetics. *Ann. Bot.* **2007**, *100*, 925–940. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Kraft, K.H.; de Jesús Luna-Ruiz, J.; Gepts, P. A New Collection of Wild Populations of *Capsicum* in Mexico and the Southern United States. *Genet. Resour. Crop Evol.* **2013**, *60*, 225–232. [[CrossRef](#)]
37. Dipp-Alvarez, M. Variación Fenotípica En Resistencia Contra Herbívoros y Éxito Reproductivo En Cuatro Poblaciones Silvestres de Chiltepín *Capsicum Annuum* Var. *Glabriusculum* (Solanaceae). Tesis de Licenciatura, Universidad Autónoma de Baja California, Baja California, México, 2015.
38. Jiménez-Leyva, J.A.; Gutiérrez, A.; Orozco, J.A.; Vargas, G.; Esqueda, M.; Gardea, A.; González-Hernández, V.; Sánchez, E.; Muñoz, E. Phenological and Ecophysiological Responses of *Capsicum Annuum* Var. *Glabriusculum* to Native Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Phosphorus Availability. *Environ. Exp. Bot.* **2017**, *138*, 193–202. [[CrossRef](#)]
39. Aguilar-Meléndez, A.; Lira-Noriega, A. ¿Dónde Crecen Los Chiles En México? In *Los Chiles Que Le Dan Sabor Al Mundo: Contribuciones Multidisciplinarias*; Aguilar-Meléndez, A., Vázquez-Dávila, M.A., Katz, E., Colorado, M.R.H., Eds.; Universidad Veracruzana: Jalapa, Mexico, 2018; pp. 75–92.
40. Avendaño, A.; Lira, R.; Casas, A.; Khoury, C.K. Ethnobotany of Mexico 2016 Interactions of People and Plants in Mesoamerica Wild Plant Genetic Resources in North America: An Overview. In *Ethnobotany of Mexico*; Springer: New York, NY, USA, 2016.
41. Paran, I.; van der Knaap, E. Genetic and Molecular Regulation of Fruit and Plant Domestication Traits in Tomato and Pepper. *J. Exp. Bot.* **2007**, *58*, 3841–3852. [[CrossRef](#)]
42. Luna-Ruiz, J.d.J.; Nabhan, G.P.; Aguilar-Meléndez, A. Shifts in Plant Chemical Defenses of Chile Pepper (*Capsicum Annuum* L.) Due to Domestication in Mesoamerica. *Front. Ecol. Evol.* **2018**, *6*, 48. [[CrossRef](#)]
43. Milla, R.; Osborne, C.P.; Turcotte, M.M.; Violle, C. Plant Domestication through an Ecological Lens. *Trends Ecol. Evol.* **2015**, *30*, 463–469. [[CrossRef](#)]

44. Fanourakis, D.; Giday, H.; Milla, R.; Pieruschka, R.; Kjaer, K.H.; Bolger, M.; Vasilevski, A.; Nunes-Nesi, A.; Fiorani, F.; Ottosen, C.O. Pore Size Regulates Operating Stomatal Conductance, While Stomatal Densities Drive the Partitioning of Conductance between Leaf Sides. *Ann. Bot.* **2015**, *115*, 555–565. [[CrossRef](#)]
45. Richards, R.A.A. Selectable Traits to Increase Crop Photosynthesis and Yield of Grain Crops. *J. Exp. Bot.* **2000**, *51*, 447–458. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
46. Franks, P.J.; Beerling, D.J. Maximum Leaf Conductance Driven by CO₂ Effects on Stomatal Size and Density over Geologic Time. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2009**, *106*, 10343–10347. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
47. Kariyat, R.R.; Hardison, S.B.; Ryan, A.B.; Stephenson, A.G.; De Moraes, C.M.; Mescher, M.C. Leaf Trichomes Affect Caterpillar Feeding in an Instar-Specific Manner. *Commun. Integr. Biol.* **2018**, *11*, 1–6. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
48. Fernandez, A.R.; Sáez, A.; Quintero, C.; Gleiser, G.; Aizen, M.A. Intentional and Unintentional Selection during Plant Domestication: Herbivore Damage, Plant Defensive Traits and Nutritional Quality of Fruit and Seed Crops. *New Phytol.* **2021**, *231*, 1586–1598. [[CrossRef](#)]
49. Valenzuela Apodaca, E.A. *Variación en la Tolerancia al Daño Mecánico Foliar y Resistencia Contra Herbívoros en Chiles Domesticados y su Pariente Silvestre Capsicum annum var. glabrisuculum*, *Maestría en Ciencias*; CICESE: Baja California, Mexico, 2019.
50. Vijaya, M.; Rani, P.U. Defensive Responses in Capsicum Annuum (L) Plants, Induced Due to the Feeding by Different Larval Instars of Spodoptera Litura (F). *Arthropod. Plant. Interact.* **2017**, *11*, 193–202. [[CrossRef](#)]
51. Wahyuni, Y.; Ballester, A.R.; Tikunov, Y.; de Vos, R.C.H.; Pelgrom, K.T.B.; Maharijaya, A.; Sudarmonowati, E.; Bino, R.J.; Bovy, A.G. Metabolomics and Molecular Marker Analysis to Explore Pepper (*Capsicum* Sp.) Biodiversity. *Metabolomics* **2013**, *9*, 130–144. [[CrossRef](#)]
52. Matesanz, S.; Milla, R. Differential Plasticity to Water and Nutrients between Crops and Their Wild Progenitors. *Environ. Exp. Bot.* **2018**, *145*, 54–63. [[CrossRef](#)]
53. Chen, Y.H.; Shapiro, L.R.; Benrey, B.; Cibrián-Jaramillo, A. Back to the Origin: In Situ Studies Are Needed to Understand Selection during Crop Diversification. *Front. Ecol. Evol.* **2017**, *5*, 125. [[CrossRef](#)]
54. Loaiza-Figueroa, F.; Ritland, K.; Cancino, J.A.L.; Tanksley, S.D. Patterns of Genetic Variation of the Genus Capsicum (Solanaceae) in Mexico. *Plant Syst. Evol.* **1989**, *165*, 159–188. [[CrossRef](#)]
55. Pickersgill, B. Genetic Resources and Breeding of *Capsicum* Spp. *Euphytica* **1997**, *96*, 129–133. [[CrossRef](#)]

CAPÍTULO 4

DISCUSIÓN GENERAL

Este trabajo de investigación es una aproximación al estudio de la domesticación en plantas mediante la fenotipificación de rasgos morfológicos y funcionales en plantas domesticadas *Capsicum annuum* y su ancestro silvestre *C. annuum* var. *glabriusculum*. Siguiendo un enfoque que sitúa a los humanos como promotores de la diversidad de esta especie contribuimos a comprender cómo es que se ha dado la variación de caracteres en chiles domesticados que se cultivan actualmente, los cuales han pasado por no uno, sino varios eventos de domesticación a través de los 7,000 años desde que se domesticó el género (Kraft et al 2015), y que han dado origen hasta generar divergencias suficientes que las separaron por completo de su forma original, y poder reconocer la amplia variedad de formas que observamos en la actualidad (www.segob.mx). Las variedades poseen una identidad fenotípica definida, producto de diversos factores como preferencias locales ejercidas por los seleccionadores, condiciones ambientales, genotipos y su adaptabilidad a las condiciones que las rodean. Dicho esto, esta tesis trata de comprender los cambios que ocurren en la planta en su totalidad, y dirigir esfuerzos hacia la investigación ecológica y evolutiva en ambientes cultivados, donde las plantas expresan sus fenotipos en respuesta a presiones selectivas particulares

En nuestro sistema de estudio, *Capsicum annuum* la amplia variación fenotípica hallada en caracteres morfológicos, tanto vegetativos y reproductivos presentes en los cultivares de *Capsicum annuum* variedad *annuum*, son resultado de la divergencia evolutiva producida por la selección a la que han sido expuestas través de diferentes episodios de domesticación (tanto las variedades silvestres como los cultivares; Aguilar Meléndez, 2006). La variación en tamaños, color y formas son producto de la selección constante de atributos de particular interés según el área geográfica. El conjunto de caracteres morfológicos que se presentan entre los cultivares y su ancestro silvestre en este estudio, ejemplifican los cambios ocurridos producto del síndrome de domesticación (Meyer y Purugganan, 2013; Purugganan, 2019) el cual, ha generado un incremento en el tamaño de estructuras vegetativas y reproductivas en la mayoría de los cultivares utilizados. En el caso de nuestro sistema de estudio *Capsicum sp.*, las diferencias notables en caracteres morfológicos de los cultivares con respecto a la variedad silvestre, sugieren que el proceso de domesticación en *Capsicum annuum* ocurrió hace 6 mil años aproximadamente, tiempo suficiente para acumular una diferenciación morfológica significativa entre el cultivo y su ancestro silvestre (Munguía-Rosas. 2019). De acuerdo a Doebley *et al* (2006); Meyer & Purugganan (2013), quienes proponen que los cambios ocurridos en el incremento de los frutos, además de los ocurridos en la arquitectura de las plantas, pueden ser identificados

como rasgos de diversificación, los cuales, fueron adquiridos en las últimas etapas del proceso de domesticación.

En esta tesis analizamos los frutos, las flores, las hojas y el crecimiento. Con excepción de los datos de crecimiento, la evidencia de este estudio mostró una clara divergencia de los órganos de la variedad silvestre en relación a las domesticadas. La evidencia que muestra este trabajo apoya ideas propuestas por Matesanz y Milla (2015; 2017), quienes por medio de experimentos han demostrado que la tendencia de los organismos domesticados es hacia el incremento de tamaño, dicho incremento se registró principalmente en la parte aérea de las variedades utilizadas. De forma similar, Turcotte y colaboradores (2014, 2015) observaron que los organismos bajo domesticación, tendían a incrementar su tamaño. Esta evidencia se ha centrado en órganos o partes de la planta que están sujetas a la selección humana. Sin embargo, otros caracteres funcionales como la tasa de transpiración no se modificaron sustancialmente en algunos estudios (Serrano-Mejía et al., 2022) posiblemente porque sea un rasgo que no es seleccionado de manera consciente. Por lo que no presenta una diferencia drástica cuando se compara con su ancestro silvestre mientras ocurre el proceso de domesticación, o en episodios posteriores a este.

El objetivo de realizar una caracterización del fenotipo de estos cultivares domesticados en sus etapas vegetativa y reproductiva y compararlo con el fenotipo de su ancestro silvestre, segunda parte de este trabajo, representó una oportunidad de explicar el grado de variación de rasgos seleccionados entre cultivares domésticos y la accesión silvestre, bajo la hipótesis que la domesticación ha producido cambios en la arquitectura de la planta y se ha centrado en el carácter bajo selección, que en nuestro sistema de estudio es el fruto. Sin embargo, no tenemos la certeza de cuál será el grado de cambio que se presentaría en el resto de caracteres que no han sido objeto de selección como la parte vegetativa y reproductiva (flores y frutos). Además si caracteres funcionales relacionados con la epidermis foliar, y algunos de tipo funcional como la variación en el número de tricomas, conductancia estomática y tipos de tricomas en las hojas, se han modificado durante el proceso de selección, tema principal del tercer capítulo, donde se aborda el estudio de la epidermis foliar, además del papel que juega en la defensa contra herbívoros, quienes en ambientes naturales ejercen una presión constante sobre el desempeño de las plantas, consumiendo distintas partes de las mismas.

Por último, toda la variación fenotípica producto de la domesticación en plantas y animales que se observa actualmente, está acompañada de factores múltiples que han ido moldeando la variación fenotípica a través del tiempo, por lo que tratar de explicar la variación de un carácter dado, o la domesticación como un agente único que promueve el cambio es un tanto erróneo. Se debe recalcar que este es un proceso complejo, donde múltiples factores contribuyen en la

variación que se presenta. Uno de los factores que se pueden mencionar y que juega un papel sumamente importante en la variación de la expresión de rasgos propios de la domesticación es el componente genético, el cual, mediante la transferencia y modificación de genes, han producido efectos profundos sobre la diversificación y mejoramiento de caracteres deseados en *Capsicum* y otros cultivares bajo esta fuerza de selección.

Esta tesis, como todos los trabajos que tienen un tiempo finito, presenta limitaciones y generó preguntas relevantes que podrán contestarse siguiendo esta línea de investigación. Por ejemplo, La raíz ha sido un órgano poco estudiado en este contexto y es necesario prestar más atención a estudios que permitan entender el potencial del costo ecológico en diferentes condiciones agroecológicas. Cada vez es más reconocida la interacción entre las plantas y los microorganismos del suelo, no solo patógenos, sino también con aquellos que benefician la absorción de agua, nutrientes y reducen el impacto negativo del ambiente biótico y abiótico. Por ello es necesario conducir investigación. Es necesario un punto de vista ecológico y evolutivo que permita evaluar los cambios ocurridos entre plantas silvestres y cultivadas en relación a la asignación de biomasa a las partes aéreas y subterráneas, y si esto influye en las relaciones benéficas entre planta y microorganismos (Porter y Sachs 2020; Trivedi et al., 2020). Esperemos que estudios posteriores contribuyan a esta rama de la ecología evolutiva del Chile.

Una de las principales limitaciones de esta tesis es la falta de evidencia que indique cuales son los mecanismos genéticos y fisiológicos que explican la divergencia de los chiles. Sin embargo, el Chile *C. annum* es un modelo de estudio de origen muy atractivo por su importancia alimenticia y medicinal histórica y actual en todo el mundo, (ver https://www.alimente.elconfidencial.com/bienestar/2021-10-04/premio-nobel-de-medicina-de-2021_3300732/). Afortunadamente, investigaciones recientes se han preocupado por investigar con detalle la historia de la domesticación del Chile en México con base en evidencia multidisciplinaria proveyendo de evidencia que indica diferentes centros de domesticación en México (Kraft et al., 2015). También ya se cuenta con un genoma publicado de Chile (Quin et al., 2014) que ha sido importante como referencia para estudiar con detalle la arquitectura genética del Chile y las bases genéticas de su morfología frutal y floral (Cao et al 2023). Es con esta evidencia que hemos explicado las bases genéticas de los hallazgos morfológicos de este estudio y nos permite discutir con evidencia nuestras observaciones.

Es por ello que estudios de fenotipificación de *Capsicum annum* o de cualquier otra especie vegetal que se encuentre bajo domesticación se nutrirá de forma significativa con evidencia obtenida de la incorporación de análisis genéticos, y/o químicos, para identificar qué gen o

conjunto de genes están contribuyendo a la ausencia, presencia o variación de atributos que contribuyen a la divergencia de los organismos bajo selección con respecto a su ancestro silvestre (Díaz-Valenzuela et al., 2020; Díaz-Valenzuela et al., 2023; Pickersgill, 2018).

Finalmente, el estudio de la variación en caracteres defensivos en *Capsicum* mediante la fenotipificación y/o genotipificación es otra línea de investigación que no debería dejarse de lado. Si bien las plantas silvestres poseen sistemas defensivos físicos y químicos que les permiten disminuir o evitar el daño causado por herbívoros, en condiciones de domesticación, este atributo ha presentado modificaciones, aun así, se pueden identificar variedades resistentes a la herbivoría que pueden contribuir a la disminución del uso de insecticidas en cultivos.

Bibliografía:

Díaz-Valenzuela, E., Sawers, R. H., & Cibrián-Jaramillo, A. (2020). Cis-and trans-regulatory variations in the domestication of the chili pepper fruit. *Molecular biology and evolution*, *37*(6), 1593-1603.

Díaz-Valenzuela, E., Hernández-Ríos, D., & Cibrián-Jaramillo, A. (2023). The role of non-additive gene action on gene expression variation in plant domestication. *EvoDevo*, *14*(1), 1-14.

Milla, R., Osborne, C. P., Turcotte, M. M., & Violle, C. (2015). Plant domestication through an ecological lens. *Trends in ecology & evolution*, *30*(8), 463-469.

Milla, R., & Matesanz, S. (2017). Growing larger with domestication: a matter of physiology, morphology or allocation? *Plant Biology*, *19*(3), 475-483.

Pickersgill, B. (2018). Parallel vs. convergent evolution in domestication and diversification of crops in the Americas. *Frontiers in Ecology and Evolution*, *6*, 56.

Porter, S. S., & Sachs, J. L. (2020). Agriculture and the disruption of plant–microbial symbiosis. *Trends in Ecology & Evolution*, *35*(5), 426-439.

Qin, C., Yu, C., Shen, Y., Fang, X., Chen, L., Min, J. & Zhang, Z. (2014). Whole-genome sequencing of cultivated and wild peppers provides insights into *Capsicum* domestication and specialization. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *111*(14), 5135-5140

Raaijmakers, J. M., & Kiers, E. T. (2022). Rewilding plant microbiomes. *Science*, *378*(6620),

599-600.

<https://www.gob.mx/semarnat/articulos/las-64-variedades-de-chile-en-mexico> 2018

Turcotte, M. M., Turley, N. E., & Johnson, M. T. (2014). The impact of domestication on resistance to two generalist herbivores across 29 independent domestication events. *New Phytologist*, 204(3), 671-681.

Trivedi, P., Leach, J. E., Tringe, S. G., Sa, T., & Singh, B. K. (2020). Plant–microbiome interactions: from community assembly to plant health. *Nature reviews microbiology*, 18(11), 607-620.