

Respuesta de accesiones de *Capsicum annuum* L. a la infección por *Agrobacterium tumefaciens*

Response of *Capsicum annuum* L. to *Agrobacterium tumefaciens* infection

Karla Vanessa De Lira-Ramos¹ , José Francisco Morales-Domínguez² , Ernesto González-Gaona³ , Daniel Alejandro Díaz-García² , Joaquín Sosa-Ramírez⁴ , Roberto Sánchez-Lucio⁵ , José de Jesús Luna-Ruiz^{4*} 

¹Centro de Ciencias Básicas, Universidad Autónoma de Aguascalientes. Av. Universidad, 940, Ciudad Universitaria, CP. 20100. Aguascalientes, Aguascalientes, México.

²Departamento de Química, Centro de Ciencias Básicas, Universidad Autónoma de Aguascalientes. Av. Universidad, 940, CP. 20100. Aguascalientes, México.

³Campo Experimental Pabellón, Centro de Investigación Regional Norte Centro del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Kilómetro 32.5 Carretera Aguascalientes-Zacatecas, CP. 20660. Pabellón de Arteaga, Aguascalientes, México.

⁴Departamento de Ciencias Agronómicas, Centro de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma de Aguascalientes. Av. Universidad, 940, CP. 20100. Aguascalientes, Aguascalientes, México.

⁵Campo Experimental Santiago Ixcuintla, Centro de Investigación Regional Pacífico Centro del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Kilómetro 6 Carretera Internacional México-Nogales Centro, CP. 63300. Santiago Ixcuintla, Nayarit, México.

*Autor de correspondencia: joselunarui11@yahoo.com.mx

Artículo científico

Recibido: 24 de octubre 2025

Aceptado: 04 de agosto 2026

RESUMEN. *Capsicum annuum* es una especie de importancia agrícola y biotecnológica; sin embargo, su recalcitrancia ha limitado los procesos de transformación genética y agroinoculación mediada por *Agrobacterium tumefaciens*. El objetivo de este estudio fue evaluar la respuesta de 29 accesiones de *C. annuum*, con distintos niveles de domesticación (silvestres, semisilvestres, semidomesticadas y domesticadas), a la infección por *A. tumefaciens* GV3101. Las plantas fueron inoculadas y evaluadas a los 7, 14, 21, 28 y 35 días después de la inoculación (ddi). La severidad de agallamiento se registró mediante una escala visual de 0-3 (0 = Sin agallas, 3 = agallas diferenciadas), y se estimaron la incidencia de plantas afectadas y el área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE). Asimismo, se realizaron reaislamientos bacterianos para confirmar la identidad del agente causal. El análisis de varianza factorial mostró un efecto significativo del tiempo sobre la progresión de agallamiento ($p < 0.001$), pero no se detectaron diferencias significativas entre accesiones ni entre grupos de domesticación ($p > 0.05$). El reaislamiento confirmó la presencia de *A. tumefaciens* en los tejidos tumorales. En conclusión, la compatibilidad con *A. tumefaciens* es relativamente homogénea en *C. annuum*, independientemente del grado de domesticación, lo que indica que la infección bacteriana no constituye la principal limitante y proporciona información útil para el diseño de protocolos de agroinoculación de virus fitopatógenos.

Palabras clave: domesticación, recalcitrancia, formación de agallas, transformación genética, agroinoculación.

ABSTRACT. *Capsicum annuum* is a species of agricultural and biotechnological importance; however, its recalcitrance has limited the processes of genetic transformation and agroinoculation mediated by *Agrobacterium tumefaciens*. The objective of this study was to characterize the response of 29 accessions of *C. annuum*, with different levels of domestication (wild, semi-wild, semi-domesticated and domesticated), to *A. tumefaciens* GV3101 infection. The plants were inoculated and evaluated at 7, 14, 21, 28 and 35 days after inoculation (dai). The severity of galling was recorded using a visual scale of 0-3 (0 = No galls, 3 = differentiated galls), and the incidence of affected plants and the area under the disease progression curve (AUDPC) were estimated. Bacterial reisolates were also performed to confirm the identity of the causative agent. The analysis of factorial variance showed a significant effect of time on the progression of galling ($p < 0.001$), but no significant differences were detected between accessions or between domestication groups ($p > 0.05$). Reisolation confirmed the presence of *A. tumefaciens* in the tumor tissues. In conclusion, compatibility with *A. tumefaciens* is relatively homogeneous in *C. annuum*, regardless of the degree of domestication, which indicates that bacterial infection is not the main limitation and provides useful information for the design of agroinoculation protocols for phytopathogenic viruses.

Keywords: domestication, recalcitrance, gall formation, genetic transformation, agroinoculation.

Como citar: De Lira-Ramos KV, Morales-Domínguez JF, González-Gaona E, Díaz-García DA, Sosa-Ramírez J, Sánchez-Lucio R, Luna-Ruiz J de J (2026) Respuesta de accesiones de *Capsicum annuum* L. a la infección por *Agrobacterium tumefaciens*. Ecosistemas y Recursos Agropecuarios 13(3): e4869. DOI: 10.19136/era.a13n3.4869.

INTRODUCCIÓN

Capsicum annuum L. es una de las hortalizas de mayor importancia económica y cultural en México y a nivel mundial, debido a su amplio uso culinario, industrial y nutraceutico (Aguilar-Rincón *et al.* 2010, López-López *et al.* 2016, FAOSTAT 2023). Posee una amplia variabilidad genética, que incluye accesiones silvestres, semisilvestres y domesticadas, lo que la convierte en un modelo adecuado para estudiar los procesos de domesticación y la adaptación a distintos sistemas de manejo (Carrizo-García *et al.* 2016).

C. annuum es una especie considerada como recalcitrante a la transformación genética mediada por *Agrobacterium tumefaciens*. En comparación con otras solanáceas como tomate (*Solanum lycopersicum*) o tabaco (*Nicotiana tabacum*), en las que la transformación genética se logra con mayor facilidad, *Capsicum* no responde de manera eficiente a dicha transformación (Ochoa-Alejo y Ramírez-Malagón 2001). Esta recalcitrancia es atribuida a diferencias genotípicas de chile que afectan la compatibilidad entre la planta y la bacteria y la capacidad de los tejidos para responder al proceso de infección bacteriana. *A. tumefaciens* transfiere un fragmento de ADN-T desde un plásmido Ti hacia el genoma de la planta, lo que desencadena una proliferación celular descontrolada y la formación de agallas o tumores (Gelvin 2017). Este mecanismo ha permitido utilizar a la bacteria como vector biológico en estudios de patogénesis, función génica y, particularmente, en metodologías de agroinoculación de virus fitopatógenos (Rajam *et al.* 2021).

Estudios previos muestran que la respuesta de *C. annuum* a la infección de *A. tumefaciens* varía entre genotipos, observándose materiales que desarrollan agallas de forma consistente y otros con baja compatibilidad (Dabauza y Peña 2003, Kumar *et al.* 2012, Mahto *et al.* 2018, Rajam *et al.* 2021). Sin embargo, son escasos los trabajos que evalúan esta respuesta en un gradiente amplio de domesticación, aun cuando se ha propuesto que los procesos de domesticación y mejoramiento pueden reducir la variabilidad genética y modificar los mecanismos de defensa frente a patógenos (Doebley *et al.* 2006, Meyer y Purugganan 2013).

En este contexto, es importante evaluar si el grado de domesticación está asociado con la compatibilidad frente a *A. tumefaciens*. Esta información es relevante para optimizar metodologías de agroinoculación de virus fitopatógenos, especialmente de los Geminivirus para la transferencia de su genoma hacia la planta. Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue evaluar la respuesta de 29 accesiones de *C. annuum* con distintos niveles de domesticación (silvestres, semisilvestres, semidomesticadas y domesticadas), a la infección por *A. tumefaciens* GV3101, con el fin de determinar si la domesticación se asocia con diferencias en la compatibilidad planta-bacteria.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se emplearon 29 accesiones de *C. annuum* con diferentes grados de domesticación (silvestres, semisilvestres, semidomesticadas y domesticadas), provenientes del Banco de Germoplasma del Centro de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Aguascalientes. Las

accesiones se clasificaron de acuerdo con su sistema de manejo u origen, considerando materiales cultivados, de traspatio, de programas de mejoramiento y poblaciones silvestres colectadas o conservadas *in situ* (Tabla 1).

Tabla 1. Accesiones de chile (*Capsicum* spp.) con diferente grado de domesticación seleccionadas del Banco de Germoplasma de la Universidad Autónoma de Aguascalientes para la evaluación de respuesta a la infección con *A. tumefaciens* GV3101.

No.	Accesión	Tipo o raza	Grado de domesticación	Categoría de manejo/origen
1	Acc-2	Pasilla	Domesticado	Criollo cultivado
2	Acc-5	Guajillo	Domesticado	Criollo cultivado
3	Acc-6	Guajillo	Domesticado	Criollo cultivado
4	Acc-12	Puya	Domesticado	Criollo cultivado
5	Acc-13	Pasilla	Domesticado	Criollo cultivado
6	Acc-15	Puya	Domesticado	Criollo cultivado
7	Acc-18	Ancho	Domesticado	Criollo cultivado
8	Acc-21	Puya	Domesticado	Criollo cultivado
9	Acc-60	Huacle	Domesticado	Criollo cultivado
10	Acc-61	Huacle	Domesticado	Criollo cultivado
11	Acc-62	Huacle	Domesticado	Criollo cultivado
12	Acc-65	Cascabel	Domesticado	Criollo cultivado
13	Acc-66	Cora	Domesticado	Criollo cultivado
14	Acc-113	Bola	Domesticado	Variedad Mejorada
15	Acc-63	Serrano	Semidomesticado	Fuente de resistencia
16	Acc-109	Parado	Semidomesticado	Traspatio
17	Acc-110	Parado	Semidomesticado	Traspatio
18	Acc-111	Parado	Semidomesticado	Traspatio
19	Acc-100	Piquín	Semisilvestre	Traspatio
20	Acc-107	Piquín	Semisilvestre	Traspatio
21	Acc-108	Piquín	Semisilvestre	Traspatio
22	Acc-96	Chiltepin	Silvestre	Población silvestre
23	Acc-97	Chiltepin	Silvestre	Población silvestre
24	Acc-101	Chiltepin	Silvestre	Población Silvestre
25	Acc-102	Chiltepin	Silvestre	Población silvestre
26	Acc-103	Chiltepin	Silvestre	Población silvestre
27	Acc-104	Amashito	Silvestre	Población silvestre
28	Acc-105	Amashito	Silvestre	Población silvestre
29	Acc-106	Pico Paloma	Silvestre	Traspatio

Las semillas se desinfectaron superficialmente con NaOH al 2% durante 4 min, seguido de cuatro enjuagues consecutivos con agua destilada estéril (un min por cada enjuague). Posteriormente, se imbibieron en una solución de ácido giberélico comercial (Bio Gib®, 10% AG) durante 24 h a 25 °C, con el fin de promover la germinación (García *et al.* 2010).

Las semillas se sembraron en charolas forestales de plástico de 20 cavidades con sustrato "Peat moss". Las plántulas se mantuvieron por 7 días en cámara de crecimiento con un fotoperiodo de

16:8 h (luz:oscuridad), con temperatura controlada de 20-30 °C (mínimo-máximo). Posteriormente cada planta fue trasplantada en macetas de 5 L con "Peat moss". Todas las plantas se fertilizaron semanalmente con una solución nutritiva que contenía nitrato de magnesio (1 g L⁻¹), nitrato de calcio (1 g L⁻¹) y un complejo de aminoácidos (500 mg L⁻¹).

Cepa bacteriana e inoculación

Se utilizó la cepa *A. tumefaciens* GV3101, conservada en glicerol al 20% a -80 °C. La bacteria se cultivó en medio Luria Bertani (LB) suplementado con rifampicina (50 mg L⁻¹) a 28 °C durante 48 h. Posteriormente, las células bacterianas se suspendieron en agua y se ajustó a una densidad óptica de OD₆₀₀ = 0.8.

La inoculación se realizó en plántulas de 50 días de edad mediante punción directa en el tallo, introduciendo la aguja estéril en la región comprendida entre los cotiledones y las primeras hojas verdaderas. En cada sitio de inoculación se aplicaron 10 µL de la suspensión bacteriana.

Para cada accesión se inocularon de 3 a 4 plántulas, y se incluyeron de 3 a 4 plántulas adicionales como controles negativos, las cuales fueron puncionadas en el mismo sitio pero utilizando únicamente agua destilada estéril. Después de la inoculación, las plantas se mantuvieron en oscuridad durante 72 h y después se regresaron a las condiciones de fotoperiodo y fertilización descritas previamente.

Evaluación de síntomas

La severidad de los síntomas de agallamiento se evaluó cada 7 días hasta los 35 días después de la inoculación (ddi), utilizando una escala visual de agallamiento desarrollada en este estudio, donde 0 = sin síntomas, 1 = necrosis localizada, 2 = hipertrofia, y 3 = agallas diferenciadas.

Las evaluaciones se realizaron individualmente en cada planta inoculada, registrando el valor de severidad correspondiente en cada fecha de evaluación, con el fin de describir la progresión de los síntomas inducidos por *A. tumefaciens*.

La incidencia se calculó en cada fecha de evaluación y se expresó como el porcentaje de plantas con síntomas (severidad > 0) por accesión, con respecto al total de plantas inoculadas.

Con los valores de severidad registrados a lo largo del tiempo se calculó el área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) mediante el método trapezoidal descrito por Campbell y Madden (1990), utilizando la siguiente fórmula:

$$ABCPE = \sum_{i=1}^{n-1} \frac{(y_i + y_{i+1} + 1)}{2} (t_{i+1} - t_i)$$

donde y_i y y_{i+1} representan la severidad de los síntomas en los tiempos consecutivos t_i y t_{i+1} , respectivamente, y n es el número total de evaluaciones.

Reaislamiento de *A. tumefaciens* GV3101

Para confirmar la presencia de la bacteria en el tejido tumoral, se seleccionaron agallas con severidad 3 y se realizaron cortes de aproximadamente 0.5 cm³ en condiciones estériles. Los fragmentos de tejido se desinfectaron superficialmente con hipoclorito de sodio al 1% durante 1

min y se enjuagaron tres veces con agua estéril. Posteriormente, los explantes se colocaron en medio LB suplementado con rifampicina (50 mg L^{-1}) y se incubaron a 28°C durante 48 h. Como controles negativos, se utilizaron tejidos de tallos de plantas no inoculadas del mismo experimento. El reaislamiento de la bacteria a partir de tumores es un método ampliamente utilizado para confirmar la identidad de *A. tumefaciens* GV3101 en experimentos de compatibilidad y transformación (Escobar y Dandekar 2003, Gelvin 2017).

Análisis estadístico

Para cada accesión se calculó la severidad media en cada fecha de evaluación y la severidad a los 35 ddi. Las diferencias en la severidad final entre accesiones se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) de una vía, y las comparaciones múltiples se realizaron con la prueba de Tukey ($p < 0.05$). La progresión temporal de la severidad de los síntomas se evaluó mediante un ANOVA factorial de dos vías, considerando como factores la accesión y el tiempo de evaluación (ddi), con el fin de determinar el efecto del tiempo y su interacción con el genotipo sobre el desarrollo de los síntomas.

La incidencia se calculó como el porcentaje de plantas con síntomas (severidad > 0) respecto al total de plantas inoculadas por accesión. Los valores de incidencia se analizaron de manera descriptiva y se emplearon para caracterizar la respuesta general de cada accesión y de los grupos de domesticación. Los valores de ABCPE se analizaron mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, seguida de la prueba de Dunn para comparaciones múltiples.

Para evaluar el efecto del grado de domesticación, las accesiones se agruparon en cuatro categorías (domesticadas, semidomesticadas, semisilvestres y silvestres). Las diferencias de la severidad final (35 ddi) entre grupos se analizaron mediante un ANOVA de una vía, seguido de la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Los valores de ABCPE entre los grupos de domesticación se analizaron mediante la prueba de Kruskal-Wallis, seguida de la prueba de Dunn para comparaciones múltiples. En todos los casos, se verificaron los supuestos de normalidad (Shapiro-Wilk) y homogeneidad de varianzas (Bartlett). Todos los análisis estadísticos fueron realizados con el paquete estadístico R (versión 4.3.3).

RESULTADOS

Progresión de los síntomas de agallamiento inducidos por *Agrobacterium tumefaciens*

Las plantas control, inoculadas únicamente con agua estéril, permanecieron asintomáticas durante todo el periodo de evaluación, registrando severidad 0 en todas las fechas de muestreo. Esto confirma que los síntomas observados en los tratamientos inoculados se deben exclusivamente a la infección por *A. tumefaciens* GV3101.

La respuesta de las accesiones de *Capsicum annuum* a la inoculación con *A. tumefaciens* GV3101 se caracterizó mediante una escala visual de severidad de agallamiento desarrollada en este estudio, basada en observaciones directas del tallo en el sitio de inoculación (Figura 1). Dicha

escala permitió describir de manera consistente la progresión temporal de los síntomas y distinguir los diferentes niveles de compatibilidad planta-bacteria.

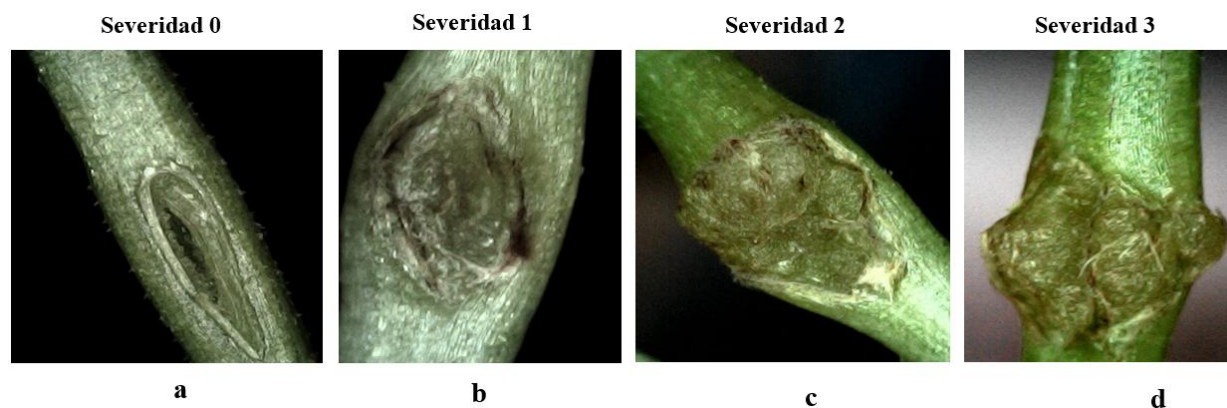


Figura 1. Escala visual de severidad de agallamiento desarrollada para evaluar la respuesta de *Capsicum annuum* con *A. tumefaciens* GV3101: (a) severidad 0: plantas asintomáticas; (b) severidad 1: síntomas iniciales; (c) Severidad 2: síntomas moderados; (d) Severidad 3: síntomas graves.

En la severidad 0 (sin daño), el tejido permaneció íntegro, sin signos visibles de hinchamiento o necrosis, correspondiente a plantas que no desarrollaron agallas tras la inoculación (Figura 1a). La severidad 1 (necrosis localizada) se caracterizó por la presencia de necrosis localizada y un ligero engrosamiento o cambio de coloración del tejido en el sitio de inoculación, indicando una respuesta inicial del hospedero frente a la bacteria (Figura 1b).

En la severidad 2 (hipertrofia), se formaron agallas pequeñas y bien delimitadas, con proliferación celular evidente alrededor de la herida. Estas estructuras presentan mayor consistencia y expansión radial moderada del tejido afectado (Figura 1c).

Finalmente, la severidad 3 (agallas diferenciadas), correspondió al desarrollo de agallas prominentes claramente diferenciadas, irregulares y de mayor tamaño, con tejido tumoral visible que rodea el tallo, representando la máxima expresión de compatibilidad entre la planta y la bacteria (Figura 1d).

Severidad e incidencia de síntomas

En la Tabla 2 se muestran los valores de severidad media acumulada y el porcentaje de incidencia registrados a los 35 ddi en las 29 accesiones evaluadas. Al clasificar las accesiones de acuerdo con rangos de severidad, el 55% presentó valores entre 2.0 y 2.9, correspondientes a síntomas de moderados a severos, mientras que un 35% mostró valores intermedios entre 1.0 y 1.9. Solo el 10% de las accesiones presentó valores de severidad ≤ 1.0 , lo que corresponde a un desarrollo bajo de agallas. Las accesiones Acc-13 (Pasilla, domesticada) y Acc-109 (Parado, semidomesticada) presentaron los valores más altos de severidad (3.0 y 2.75, respectivamente), lo que muestra una alta susceptibilidad a *A. tumefaciens* GV3101. En contraste, las accesiones como Acc-113 (Bola, domesticada) y Acc-110 (Parado, semidomesticada) mostraron severidad baja (≤ 0.75). Estos resultados muestran una alta compatibilidad entre *A. tumefaciens* GV3101 y el germoplasma de *C. annuum* evaluado en este estudio.

Tabla 2. Severidad media acumulada y porcentaje de incidencia en accesiones de *C. annuum* inoculadas con *A. tumefaciens* GV3101 a los 35 días después de la inoculación.

Accesión	Tipo	Grupo	TPS/TPI	SM ± EE ⁱ	% incidencia
Acc-2	Pasilla	Domesticado	3/3	3.00 ± 0.00 ^{aii}	100
Acc-5	Guajillo	Domesticado	4/4	2.25 ± 0.25 ^a	100
Acc-6	Guajillo	Domesticado	3/4	1.75 ± 0.63 ^a	75
Acc-12	Puya	Domesticado	4/4	2.50 ± 0.29 ^a	100
Acc-13	Pasilla	Domesticado	4/4	3.00 ± 0.00 ^a	100
Acc-15	Puya	Domesticado	4/4	2.25 ± 0.25 ^a	100
Acc-18	Ancho	Domesticado	3/3	2.33 ± 0.33 ^a	100
Acc-21	Puya	Domesticado	3/4	0.75 ± 0.25 ^a	75
Acc-60	Huacle	Domesticado	4/4	2.25 ± 0.48 ^a	100
Acc-61	Huacle	Domesticado	3/4	1.25 ± 0.48 ^a	75
Acc-62	Huacle	Domesticado	3/3	2.67 ± 0.33 ^a	100
Acc-65	Cascabel	Domesticado	4/4	1.50 ± 0.29 ^a	100
Acc-66	Cora	Domesticado	3/4	1.00 ± 0.40 ^a	75
Acc-113	Bola	Domesticado	2/3	0.67 ± 0.33 ^a	67
Acc-63	Serrano	Semidomesticado	4/4	2.00 ± 0.58 ^a	100
Acc-109	Parado	Semidomesticado	4/4	2.75 ± 0.25 ^a	100
Acc-110	Parado	Semidomesticado	2/4	0.75 ± 0.48 ^a	50
Acc-111	Parado	Semidomesticado	3/4	0.75 ± 0.25 ^a	75
Acc-100	Piquín	Semisilvestre	4/4	2.00 ± 0.58 ^a	100
Acc-107	Piquín	Semisilvestre	3/3	1.33 ± 0.33 ^a	100
Acc-108	Piquín	Semisilvestre	2/3	1.33 ± 0.67 ^a	67
Acc-96	Chiltepín	Silvestre	3/4	1.50 ± 0.5 ^a	75
Acc-97	Chiltepín	Silvestre	3/3	2.33 ± 0.67 ^a	100
Acc-101	Chiltepín	Silvestre	4/4	2.00 ± 0.40 ^a	100
Acc-102	Chiltepín	Silvestre	3/3	1.25 ± 0.48 ^a	100
Acc-103	Chiltepín	Silvestre	4/4	2.00 ± 0.00 ^a	100
Acc-104	Amashito	Silvestre	4/4	2.25 ± 0.48 ^a	100
Acc-105	Amashito	Silvestre	4/4	2.50 ± 0.29 ^a	100
Acc-106	Pico Paloma	Silvestre	3/3	2.00 ± 0.58 ^a	100

TPS = Total de plantas sintomáticas. TPI = Total de plantas inoculadas. SM = Severidad media calculada con una prueba de Tukey ($P \leq 0.05$). ⁱSeveridad media ± Error Estándar. ⁱⁱMedias con la misma letra dentro de la misma columna no son significativamente diferentes según prueba de Tukey, $P \leq 0.05$

En cuanto a la incidencia, el 66% de las accesiones mostró infección del 100%, y el resto se distribuyó entre los rangos de 50-99%. El análisis de varianza de la severidad a los 35 ddi mostró diferencias globales entre accesiones ($F = 2.60$; $p \leq 0.01$). Sin embargo, la prueba de Tukey no detectó diferencias significativas entre accesiones, agrupándolas en una misma categoría. Mientras que la incidencia a los 35 ddi (%) no mostró diferencias significativas entre accesiones ($p > 0.05$). Esto indica que la compatibilidad de *A. tumefaciens* GV3101 es general en el germoplasma evaluado de *C. annuum*, independientemente de la accesión (Tabla 3).

Tabla 3. Severidad media e incidencia (%) de agallas inducidas por *A. tumefaciens* GV3101 a 35 ddi en accesiones de *C. annuum* agrupadas por grado de domesticación.

Grado de domesticación	n	SM ⁱ	Min-Max	Incidencia final (%)	Intervalo observado
Domesticado	14	1.91 ± 0.13 ⁱⁱⁱ	0 - 3 ⁱⁱⁱ	92 ± 5.1	85-100
Semidomesticado	4	1.56 ± 0.29 ^a	0 - 3	55 ± 6.8	40-65
Semisilvestre	3	1.60 ± 0.31 ^a	0 - 3	69 ± 12.4	20-95
Silvestre	8	1.97 ± 0.16 ^a	0 - 3	27 ± 8.2	10-35

n = número de accesiones que conforman el grupo de domesticación. ⁱSeveridad media ± error estándar. ⁱⁱMedias con la misma letra dentro de la misma columna no son significativamente diferentes según prueba de Tukey ($P \leq 0.05$). ⁱⁱⁱLos valores mínimos y máximos corresponden a la severidad observada en las plantas de cada grupo de domesticación, de acuerdo con la escala visual (0-3). Incidencia final = promedio porcentual de plantas con síntomas al último muestreo (35 ddi). Intervalo observado = rango mínimo y máximo (%) de incidencia dentro de las accesiones de cada grupo.

Influencia del grado de domesticación en la severidad e incidencia final

La comparación de la severidad final de las agallas inducidas por *A. tumefaciens* GV3101 entre los grupos de domesticación no mostró diferencias significativas ($F = 0.54$; $P = 0.65$). Las accesiones domesticadas y silvestres mostraron valores de severidad promedio similares a los 35 ddi, sin diferencias estadísticas entre grupos (1.91 ± 0.13 y 1.97 ± 0.16). En cuanto a la incidencia, las accesiones domesticadas presentaron valores altos y homogéneos, con un promedio de 92.3 ± 5.1 %, mientras que las accesiones silvestres mostraron valores variables del 26.7 ± 8.2 %, indicando que solo una fracción de las plantas silvestres desarrolló tumores visibles.

Aunque la severidad media y la incidencia no mostraron efecto significativo en el grado de domesticación; las accesiones domesticadas fueron consistentemente susceptibles, mientras que las silvestres mostraron una respuesta más heterogénea, con menor proporción de plantas afectadas.

Área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE)

El análisis del ABCPE mostró diferencias significativas entre accesiones ($\chi^2 = 56.68$; GL = 28; $P = 0.001$). Aunque se observaron variaciones entre los genotipos, con valores bajos como Acc-110 (2.62 ± 1.68) hasta valores altos como Acc-13 (63 ± 7.42), las comparaciones múltiples mediante la prueba de Dunn no detectaron diferencias significativas entre accesiones, ($P > 0.05$), por lo que todas las accesiones se consideraron estadísticamente homogéneas en su respuesta a *A. tumefaciens* GV3101 (Tabla 4).

Al agrupar las accesiones por grado de domesticación, no se detectaron diferencias significativas en la severidad final a 35 ddi ($\chi^2 = 1.57$, GL = 3, $P = 0.66$). Las accesiones domesticadas presentaron en promedio los valores más altos de ABCPE (33.7 ± 2.8), mientras que las semidomesticadas y semisilvestres registraron valores ligeramente menores (29.4 ± 4.6 y 28.7 ± 5.2 , respectivamente). Las accesiones silvestres mostraron un valor intermedio (30.1 ± 3.7). A pesar de estas tendencias, la alta variabilidad interna impidió detectar diferencias estadísticas (Tabla 5).

Tabla 4. Área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) estimada para la severidad media en accesiones de *C. annuum* inoculadas con *A. tumefaciens* GV3101, evaluadas a 35 días después de la inoculación.

Accesión	Grupo	ABCPE SM ⁱ	n (reps)
Acc-2	Domesticado	37.62 ± 12.32 ^{aii}	3
Acc-5	Domesticado	45.5 ± 10 ^a	4
Acc-6	Domesticado	36.75 ± 14.4 ^a	4
Acc-12	Domesticado	42.88 ± 5.6 ^a	4
Acc-13	Domesticado	63 ± 7.42 ^a	4
Acc-15	Domesticado	42.88 ± 2.99 ^a	4
Acc-18	Domesticado	43.17 ± 7.65 ^a	3
Acc-21	Domesticado	11.38 ± 5.78 ^a	4
Acc-60	Domesticado	23.62 ± 7.61 ^a	4
Acc-61	Domesticado	14.88 ± 7.61 ^a	4
Acc-62	Domesticado	42.00 ± 8.81 ^a	3
Acc-65	Domesticado	21.88 ± 4.82 ^a	4
Acc-66	Domesticado	8.75 ± 3.03 ^a	4
Acc-113	Domesticado	16.33 ± 8.17 ^a	3
Acc-63	Semidomesticado	40.25 ± 12.58 ^a	4
Acc-109	Semidomesticado	37.62 ± 2.99 ^a	4
Acc-110	Semidomesticado	2.62 ± 1.68 ^a	4
Acc-111	Semidomesticado	15.75 ± 6.47 ^a	4
Acc-100	Semisilvestre	42.00 ± 8.08 ^a	4
Acc-107	Semisilvestre	22.17 ± 12.35 ^a	3
Acc-108	Semisilvestre	25.67 ± 13.45 ^a	3
Acc-96	Silvestre	24.5 ± 8.81 ^a	4
Acc-97	Silvestre	44.33 ± 8.17 ^a	3
Acc-101	Silvestre	40.25 ± 5.25 ^a	4
Acc-102	Silvestre	17.50 ± 11.16 ^a	3
Acc-103	Silvestre	40.25 ± 1.75 ^a	4
Acc-104	Silvestre	47.25 ± 7.36 ^a	4
Acc-105	Silvestre	46.38 ± 7.48 ^a	4
Acc-106	Silvestre	40.83 ± 5.83 ^a	3

ⁱSeveridad media ± error estándar. ⁱⁱMedias con la misma letra dentro de la misma columna no son significativamente diferentes según prueba de Dunn ($P \leq 0.05$). n = número de repeticiones (plantas inoculadas) que se usaron para calcular la media y el error estándar de cada accesión.

Reaislamiento de *Agrobacterium tumefaciens* GV3101

El reaislamiento a partir de cortes de agallas cultivados en medio YEB/LB suplementado con rifampicina permitió recuperar colonias bacterianas con características morfológicas de *A. tumefaciens* GV3101. Todas las muestras analizadas de accesiones que desarrollaron tumores fueron positivas al reaislamiento, confirmando la persistencia de la bacteria en el tejido vegetal. El reaislamiento confirmó la asociación de *A. tumefaciens* GV3101 con los tejidos tumorales.

Tabla 5. Área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) en accesiones de *C. annuum* agrupadas por grado de domesticación

Grado de domesticación	ABCPE SM ⁱ	n	Min-Max
Domesticado	33.7 ± 2.8 ^a	14	15 - 60
Semidomesticado	29.4 ± 4.6 ^a	4	18 - 45
Semisilvestre	28.7 ± 5.2 ^a	3	20 - 40
Silvestre	30.1 ± 3.7 ^a	8	12 - 50

ⁱÁrea bajo la curva del progreso de la enfermedad estimada a partir de la severidad promedio ± error estándar de cada grupo de domesticación. n = número de accesiones incluidas en cada categoría de domesticación. Min-Max = valores mínimo y máximo de ABCPE obtenidos dentro de cada grupo. Letras distintas indican diferencias significativas entre grupos (prueba de Kruskal-Wallis, P < 0.05).

DISCUSIÓN

Progresión de los síntomas de agallamiento inducidos por *Agrobacterium tumefaciens*

La compatibilidad de *C. annuum* con *A. tumefaciens* GV3101 ha sido un tema de interés debido a la recalcitrancia que presenta este cultivo, en comparación con otras solanáceas como tomate (*Solanum lycopersicum*) o tabaco (*Nicotiana tabacum*) (Pijeira-Fernández y Santana-Buzzy 2024).

La progresión temporal de los síntomas de agallamiento mostró un aumento gradual y consistente de la severidad a lo largo del periodo de evaluación. Este patrón concuerda con la dinámica típica de la infección por *A. tumefaciens*, en el cual la transferencia del T-DNA ocurre de manera progresiva, conduciendo a una proliferación celular creciente en el sitio de inoculación (Gelvin, 2017).

Severidad e incidencia de síntomas

En este estudio, la severidad final de los síntomas de agallamiento evaluada hasta los 35 ddi no mostró diferencias significativas entre las 29 accesiones de *C. annuum*, ni entre los 4 grupos de domesticación. Sin embargo, se observó una alta incidencia de tumores en la mayoría de los genotipos evaluados, independientemente del grupo de domesticación. Estos resultados sugieren que existe una compatibilidad basal de *C. annuum* con *A. tumefaciens* GV3101, suficiente para inducir formación de agallas bajo condiciones experimentales controladas, y que esta respuesta no está determinada por el número de accesiones evaluadas por categoría, sino por una susceptibilidad generalizada del germoplasma analizado.

Estos resultados coinciden con estudios previos que reportan una respuesta del genotipo del chile a *A. tumefaciens*, principalmente usando cepas derivadas de C58 como LBA4404 o EHA105. Sin embargo, dichos estudios tampoco han identificado accesiones completamente resistentes (Gelvin 2017, Rajam *et al.* 2021). Esto sugiere que la recalcitrancia ampliamente descrita en chile no se debe necesariamente a la capacidad de inducir tumores, sino en etapas posteriores del sistema de transformación como la regeneración de tejidos o la expresión estable de transgenes, como ya se ha descrito en otros sistemas recalcitrantes (Ochoa-Alejo y Ramírez-Malagón 2001).

Aunque no se detectaron diferencias estadísticas entre los grupos de domesticación, las accesiones domesticadas mostraron uniformidad en la susceptibilidad mientras que las accesiones silvestres presentaron respuestas más variables, incluyendo plantas asintomáticas. Este patrón puede estar relacionado con los procesos de domesticación que, al reducir la diversidad genética, también puede reducir la capacidad de respuestas defensivas frente a patógenos (Meyer y Purugganan 2013). La heterogeneidad observada en accesiones silvestres refleja la conservación de una mayor diversidad genética y de mecanismos de defensa que, aunque no suprimen la formación de agallas, sí generan respuestas más variables. Con relación a lo anterior, se ha demostrado que las poblaciones silvestres de *Capsicum* conservan una amplia diversidad genética que confiere resistencia o capacidad de adaptación a estrés biótico y abiótico, constituyendo una fuente clave para el mejoramiento genético (Poulicard *et al.* 2016, Barchenger *et al.* 2018, Liu *et al.* 2023).

Área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE)

El análisis del ABCPE, que integra la severidad del agallamiento a lo largo del tiempo, no mostró diferencias significativas entre accesiones ni entre grupos de domesticación evaluados. La ausencia de diferencias en el ABCPE sugiere que el grado de domesticación no influye de manera consistente en la velocidad de aparición ni en la acumulación progresiva del daño asociado a la infección bacteriana, lo que refuerza la compatibilidad homogénea con *C. annuum*.

Este resultado adquiere relevancia práctica, ya que en protocolos de agroinoculación de Geminivirus y otros patógenos, la eficiencia depende en gran medida de la capacidad de la cepa bacteriana para inducir tumores en los tejidos vegetales (Hanley-Bowdoin *et al.* 2013). La compatibilidad homogénea observada en el ABCPE sugiere que la agroinoculación con *A. tumefaciens* GV3101 puede aplicarse a un rango amplio de accesiones de *Capsicum* para estudios de resistencia viral, sin que el grado de domesticación represente una fuente adicional de variación en la progresión del daño.

Reaislamiento de *Agrobacterium tumefaciens* GV3101

Finalmente, el reaislamiento de *A. tumefaciens* GV3101 a partir de agallas confirma la asociación causal entre la inoculación bacteriana y los tumores, cumpliendo los postulados de Koch. Este paso experimental, frecuentemente omitido en trabajos de compatibilidad, permitió confirmar que las agallas observadas fueron causadas por la infección de *A. tumefaciens* y no por las heridas mecánicas de inoculación ni por la colonización por microorganismos oportunistas. Esta metodología válida que las variaciones observadas en severidad corresponden a la interacción planta-patógeno.

Es importante distinguir que, mientras la transformación genética requiere procesos posteriores de regeneración y selección *in vitro*, la agroinoculación depende principalmente de la capacidad de *A. tumefaciens* para transferir ADN a tejidos vegetales. En este estudio, los resultados demuestran que esta etapa inicial no constituye una limitante en *C. annuum*, lo que respalda el uso de la agroinoculación como herramienta experimental independiente de la eficiencia de regeneración.

Por lo tanto, los resultados apoyan la hipótesis de que la principal limitante para la transformación genética en Chile no radica en la infección bacteriana, sino en etapas posteriores de regeneración y selección a partir de células transformadas. En este sentido, los problemas de regeneración en *Capsicum* restringen su transformación genética vía *A. tumefaciens*, pero no limitan las aplicaciones del método de agroinoculación en *Capsicum* para evaluar la respuesta de accesiones contra virus fitopatógenos.

CONCLUSIONES

Las accesiones de *C. annuum* evaluadas mostraron una respuesta compatible frente a la infección por *A. tumefaciens* GV3101, sin diferencias significativas en la severidad final de agallamiento ni en el ABCPE independientemente del grado de domesticación. Estos resultados indican que el grado de domesticación no determina de manera significativa la compatibilidad de las accesiones con la bacteria. La confirmación del agente causal mediante el reaislamiento valida el sistema experimental y respalda el uso de *A. tumefaciens* GV3101 para aplicaciones experimentales como la agroinoculación de virus. El reaislamiento de *A. tumefaciens* a partir de las agallas confirma la relación causal entre la inoculación bacteriana y la formación de tumores, validando el modelo experimental utilizado.

AGRADECIMIENTOS

A la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI), por la beca otorgada con número 667012. Esta investigación fue financiada por la Universidad Autónoma de Aguascalientes bajo los proyectos de investigación número PIBT23-1 y PIAgRN-24-1.

CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran que no tienen intereses en competencia.

DECLARACIÓN SOBRE USO DE HERRAMIENTAS DE INTELIGENCIA ARTIFICIAL GENERATIVA

En la preparación de este manuscrito, los autores utilizaron ChatGPT como herramienta de apoyo con el objetivo de realizar correcciones gramaticales, mejorar la redacción y el estilo científico. La revisión, verificación, edición e interpretación de lo aportado por ChatGPT fue realizada por los autores, quienes asumen la total responsabilidad por el contenido publicado.

LITERATURA CITADA

- Aguilar-Rincón VH, Corona-Torres T, López-López PL, Latournerie-Moreno M, Ramírez-Meraz H, Villalón-Mendoza, Aguilar-Castillo JA (2010) Los chiles de México y su distribución. SINAREFI, Colegio de Postgraduados, INIFAP, IT Conkal, UANL, UAN. Montecillo, Texcoco, Estado de México. 114p.
- Barchenger DW, Lamour KH, Bosland PW (2018) Challenges and strategies for breeding resistance in *Capsicum annuum* to the multifarious pathogen, *Phytophthora capsici*. *Frontiers in Plant Science* 9: 628. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00628>
- Campbell CL, Madden LV (1990) Introduction to plant disease epidemiology. John Wiley & Sons. New York, USA. 532p. ISBN: 978-0-471-83236-2.
- Carrizo-García C, Barfuss, MHJ, Sehr EM, Barboza GE, Samuel R, Moscone EA, Ehrendorfer F (2016) Phylogenetic relationships, diversification and expansion of chili peppers (*Capsicum*, Solanaceae). *Annals of Botany* 118(1): 35-51. <https://doi.org/10.1093/aob/mcw079>
- Dabauza M, Peña L (2003) Response of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) genotypes to *Agrobacterium tumefaciens* as a means of selecting proper vectors for genetic transformation. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 78(1): 39-45. <https://doi.org/10.1080/14620316.2003.11511589>
- Doebley JF, Gaut BS, Smith BD (2006) The molecular genetics of crop domestication. *Cell* 127(7): 1309-1321. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.12.006>
- Escobar MA, Dandekar AM. (2003) *Agrobacterium tumefaciens* as an agent of disease. *Trends in Plant Science* 8(8): 380-386. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(03\)00162-6](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(03)00162-6)
- FAOSTAT (2023) Crops and livestock products: *Capsicum annuum*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <https://www.fao.org/faostat/> Fecha de consulta: 23 de septiembre de 2025
- García FA, Montes HS, Rangel LJA, García ME, Mendoza EM (2010) Respuesta fisiológica de la semilla chile piquín [*Capsicum annuum* var. *glabriusculum* (Dunal) Heiser & Pickersgill] al ácido giberélico e hidrotermia. *Revista mexicana de ciencias agrícolas* 1(2): 203-216.
- Gelvin SB (2017) Integration of *Agrobacterium tumefaciens* T-DNA into the plant genome. *Annual Review of Genetics* 51: 195-217. <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-120215-035320>
- Hanley-Bowdoin L, Bejarano ER, Robertson D, Mansoor S (2013) Geminiviruses: masters at redirecting and reprogramming plant processes. *Nature Reviews Microbiology* 11(11): 777-788. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3117>
- Kumar RV, Sharma VK, Chattopadhyay B, Chakraborty S (2012) An improved plant regeneration and *Agrobacterium* - mediated transformation of red pepper (*Capsicum annuum* L.). *Physiology and Molecular Biology of Plants* 18: 357-364. <https://doi.org/10.1007/s12298-012-0132-8>
- López-López P, Rodríguez-Hernández R, Bravo-Mosqueda E (2016) Impacto económico del chile huacle (*Capsicum annuum*) en el Estado de Oaxaca. *Revista Mexicana de Agronegocios* 38: 317-328. <https://doi.org/10.22004/ag.econ.239292>
- Liu F, Zhao J, Sun H, Xiong C, Sun X, Wang X, Wang Z, Jarret R, Wang J, Tang B, Xu H, Hu B, Suo H, Yang B, Ou L, Li X, Zhou S, Yang S, Liu Z, Yuan F, Pei Z, Ma Y, Dai X, Wu S, Fei Z, Zou X (2023) Genomes of cultivated and wild *Capsicum* species provide insights into pepper domestication and population differentiation. *Nature Communications* 14(1): 5487. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-41251-4>
- Mahto BK, Sharma P, Rajam MV, Reddy PM, Dhar-Ray S (2018) An efficient method for *Agrobacterium*-mediated genetic transformation of chilli pepper (*Capsicum annuum* L.). *Indian Journal of Plant Physiology* 23: 573-581. <https://doi.org/10.1007/s40502-018-0389-1>

- Meyer RS, Purugganan MD. (2013) Evolution of crop species: genetics of domestication and diversification. *Nature Reviews Genetics* 14(12): 840–852. <https://doi.org/10.1038/nrg3605>
- Ochoa-Alejo N, Ramírez-Malagón R. (2001) *In vitro* chili pepper biotechnology. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant* 37(6): 701-729. <https://doi.org/10.1007/s11627-001-0123-1>
- Pijera-Fernández G, Santana-Buzzy N (2024) *Capsicum* recalcitrance: physiological and molecular challenges of pepper tissue culture. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant* 60: 725-741. <https://doi.org/10.1007/s11627-024-10445-w>
- Poulicard, N, Pacios LF, Gallois JL, Pinero D, Garcia-Arenal F (2016) Human management of a wild plant modulates the evolutionary dynamics of a gene determining recessive resistance to virus infection. *PLoS genetics* 12(8). <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006214>
- Rajam MV, Nandy S, Pandey R (2021) Biotechnology of Red Pepper. In: Kavi Kishor PB, Rajam MV, Pullaiah T (eds) *Genetically modified crops*. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-15-5932-7_3