

Modelación de variables fisiológicas, bioquímicas, y genéticas asociadas a condiciones de sequía y salinidad en *Capsicum annuum L.*

2025

**M.C. Diana Victoria  
Melo Sabogal**



# Universidad Autónoma De Querétaro

## Facultad de Ingeniería

Modelación de variables fisiológicas, bioquímicas y genéticas asociadas a condiciones de sequía y salinidad en *Capsicum annuum L.*

Tesis

Que como parte de los requisitos para  
obtener el Grado de  
Doctor en Ingeniería de Biosistemas

Presenta  
Diana Victoria Melo Sabogal

Dirige:  
Dr. Luis Miguel Contreras Medina

Querétaro, Qro. A 30 de mayo de 2025

**La presente obra está bajo la licencia:**  
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



**CC BY-NC-ND 4.0 DEED**

**Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional**

**Usted es libre de:**

**Compartir** — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciatario no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

**Bajo los siguientes términos:**

 **Atribución** — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciatario.

 **NoComercial** — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).

 **SinDerivadas** — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

**No hay restricciones adicionales** — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

**Avisos:**

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.



Universidad Autónoma De Querétaro  
Facultad de Ingeniería  
Doctorado en Ingeniería de Biosistemas

Modelación de variables fisiológicas, bioquímicas y  
genéticas asociadas a condiciones de sequía y salinidad en  
*Capsicum annuum L.*

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de  
Doctor en Ingeniería de Biosistemas

Presenta

M.C. Diana Victoria Melo Sabogal

Dirige:

Dr. Luis Miguel Contreras Medina

Dr. Luis Miguel Contreras Medina

Presidente

Dr. Ramón Gerardo Guevara González

Secretario

Dra. Rosario Guzmán Cruz

Vocal

Dr. Irineo Torres Pacheco

Suplente

Dr. Roberto Jesús Millán Almaraz

Suplente

Centro Universitario, Querétaro, Qro.

Mayo 30 de 2025

## **Dedicatoria**

A mi compañero de vida y a mi hija Vale, por su complicidad, paciencia, palabras de ánimo y el amor que me brindan cada día.

A mi madre y a mi padre, quienes con su amor y ejemplo han sido mis mejores maestros de vida.

A mi hermana Caro y a mi primer gran amor, mi sobrina Samantha, por enseñarme el valor de la resiliencia y a sonreírle siempre a la vida.

A mis familias Colombiana y Mexicana, por su apoyo incondicional durante toda esta extrema travesía.

## **i. Agradecimientos**

Agradezco por el apoyo de mi familia tanto en Colombia como en México, por apoyarme en cada una de mis decisiones, por brindarme su amor, y por animarme a crecer personal y profesionalmente.

Agradezco al Dr. Luis Miguel Contreras Medina, por la confianza depositada en mí al aceptarme en su grupo de trabajo, por su apoyo, gestión y acompañamiento durante esta etapa. Al Dr. Iríneo Torres Pacheco por sus siempre acertados consejos, su tiempo y contribuciones para llevar a cabo este trabajo y al análisis estadístico de los resultados. Al Dr. Ramón Gerardo Guevara González por sus invaluables recomendaciones y orientación para el desarrollo de esta investigación. A la Dra. Rosario Guzmán Cruz por aceptarme como oyente en su clase de Biomatemáticas, realmente la disfruté mucho, además gracias por sus valiosos cuestionamientos, recomendaciones y el ánimo que siempre me daba. También, agradezco al Dr. Roberto Jesús Millán Almaraz por aceptar hacer parte de este trabajo, por su tiempo, contribuciones y orientación.

Agradezco a mis compañeros y amigos del Centro de Investigación Aplicada a Biosistemas (CIAB), por las enseñanzas y colaboraciones, la paciencia, el apoyo y el ánimo brindado durante todo este tiempo.

Mi agradecimiento también a la Universidad Tecnológica de Corregidora por invitarme a colaborar en diferentes trabajos de investigación, por abrirme las puertas de sus aulas para enseñar y aprender, así como por permitirme realizar algunos análisis bioquímicos de importancia para este proyecto.

Finalmente, también dirijo mi agradecimiento al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) por su apoyo a través de la beca número 773672 para estudio de doctorado.

# Índice

<b>i. Dedicatoria .....</b>	3
<b>ii. Agradecimientos .....</b>	4
<b>iii. Resumen .....</b>	17
<b>iv. Abstract .....</b>	19
<b>I. Introducción .....</b>	21
<b>II. Antecedentes.....</b>	24
2.1. Sequía.....	24
2.2. Salinidad .....	28
2.3. Modelos matemáticos .....	32
2.3.1. Modelos utilizados para medir estrés por sequía y salinidad.....	32
2.3.2. Modelos y herramientas para gestionar el riego de cultivos agrícolas .....	34
<b>III. Fundamento teórico.....</b>	38
3.1. Estrés vegetal .....	38
3.1.1. Definición de estrés .....	38
3.1.2. Factores de estrés en las plantas .....	38
3.1.3. Estrés abiótico en plantas .....	39
3.2. Estrés por sequía .....	41
3.3. Estrés por salinidad.....	44
3.4. Medición del estrés en plantas.....	45
3.5. Variables fisiológicas asociadas a condiciones de sequía y salinidad .....	49
3.5.1. Tasa fotosintética.....	49
3.5.2. Tasa de transpiración .....	51
3.5.3. Conductancia estomática.....	52
3.5.4. Déficit de presión de vapor .....	53
3.6. <i>Capsicum annuum</i> .....	53
3.6.1. Efectos de la sequía sobre <i>Capsicum annuum</i> .....	55
3.6.2. Efectos de la salinidad sobre <i>Capsicum annuum</i> .....	57

3.7. Metabolitos y genes asociados con el estrés por sequía y salinidad en plantas de chile .....	58
3.7.1. Especies reactivas de oxígeno (ROS) .....	58
3.7.2. Prolina.....	60
3.7.3. Capsaicinoides.....	62
<b>IV. Planteamiento del problema .....</b>	<b>62</b>
<b>V. Justificación .....</b>	<b>64</b>
<b>VI. Hipótesis .....</b>	<b>67</b>
<b>VII. Objetivos.....</b>	<b>68</b>
7.1. Objetivo general.....	68
7.2. Objetivos específicos .....	68
<b>VIII. Materiales y métodos .....</b>	<b>69</b>
8.1. Ubicación del área experimental .....	69
8.2. Estrés por sequía .....	70
8.2.1. Obtención del material vegetal .....	70
8.2.2. Establecimiento del diseño experimental .....	71
8.2.3. Determinación de las respuestas morfo-fisiológicas al estrés por sequía en plantas de chile jalapeño.....	73
8.2.4. Determinación del efecto del estrés por sequía sobre variables bioquímicas en plantas de chile jalapeño .....	75
8.2.5. Determinación del efecto del estrés por sequía sobre la expresión de genes chalcona isomerasa .....	85
8.2.6. Obtención de modelos matemáticos que estimen y predigan el estrés por sequía en plantas de chile jalapeño .....	86
8.2.7. Análisis estadísticos .....	87
8.3. Estrés por salinidad.....	88
8.3.1. Establecimiento del diseño experimental .....	88
8.3.2. Determinación de las respuestas morfo-fisiológicas al estrés por salinidad en plantas de chile jalapeño .....	89
8.3.3. Determinación del efecto del estrés por salinidad sobre variables bioquímicas en plantas de chile jalapeño .....	89
<b>IX. Resultados y discusión .....</b>	<b>96</b>
9.1. Estrés por sequía .....	96

9.1.1 Determinación de las respuestas morfo-fisiológicas al estrés por sequía en plantas de chile jalapeño .....	96
9.1.2. Determinación del efecto del estrés por sequía sobre variables bioquímicas en plantas de chile jalapeño .....	112
9.1.3. Efecto de condiciones de estrés por sequía sobre la expresión relativa de chalcona isomerasa .....	125
9.1.4. Obtención de modelos matemáticos que estimen y predigan el estrés por sequía en plantas de chile jalapeño .....	127
9.2. Estrés por salinidad.....	136
9.2.1. Determinación de las respuestas morfo-fisiológicas al estrés por salinidad en plantas de chile jalapeño .....	136
9.2.2. Determinación de las respuestas bioquímicas al estrés por salinidad en plantas de chile jalapeño .....	149
9.2.3. Obtención de modelos matemáticos que estimen y predigan el estrés por salinidad en plantas de chile jalapeño .....	159
9.3. Estimación de sequía y salinidad a partir de $\beta$ .....	165
<b>X. Conclusiones.....</b>	<b>168</b>
<b>XI. Bibliografía .....</b>	<b>170</b>
<b>XII. Anexos .....</b>	<b>190</b>
12.1. Estrés por sequía .....	190
12.1.1. Valores de p obtenidos para las variables morfológicas .....	190
12.1.2. Valores de p obtenidos para las variables bioquímicas en frutos ..	191
12.1.3. Curva de calibración para prolina.....	191
12.1.4. Curva de calibración para proteína .....	192
12.1.5. Curva de calibración para PAL.....	192
12.2. Estrés por salinidad .....	192
12.2.1. Valores de p obtenidos para las variables morfofisiológicas ...	192
12.2.3. Curva de calibración para determinación de proteína .....	195
12.2.4. Curva de calibración de capsaicina para la determinación de capsaicinoides totales.....	195
12.2.5. Curva de calibración de ácido gálico para determinación de polifenoles totales .....	196
12.2.6. Curva de calibración de querctetina para determinación de flavonoides totales .....	196

## Índice de cuadros

Cuadro 1. Investigaciones realizadas sobre el efecto de condiciones de sequía en diferentes cultivos vegetales.....	27
Cuadro 2. Investigaciones realizadas sobre el efecto de condiciones de salinidad en diferentes cultivos vegetales.....	30
Cuadro 3. Resumen de modelos matemáticos aplicados a cultivos con estrés por sequía y salinidad.....	35
Cuadro 4. Requerimientos de temperatura del chile (Montes, 2010). ....	55
Cuadro 5. Requerimientos para cultivo de chile (Guevara et al., 2018; Idrees et al., 2020). ....	55
Cuadro 6. Composición del sustrato de siembra.....	70
Cuadro 7. Condiciones de sequía evaluadas en plantas de <i>Capsicum annuum</i> L. ....	71
Cuadro 8. Composición de la solución nutritiva Steiner al 100% para 2500 L...	72
Cuadro 9. Reactivos y concentraciones parar realizar la curva de calibración de prolina. ....	76
Cuadro 10. Reactivos utilizados para realizar la curva de calibración de proteína por el método de Bradford. ....	78
Cuadro 11. Reactivos utilizados para realizar la curva de calibración de ácido cinámico para determinación de la actividad de PAL.....	82
Cuadro 12. Concentraciones de capsaicina utilizadas para realizar la curva de calibración.....	84
Cuadro 13. Oligonucleótidos utilizados para RT-qPCR de <i>Capsicum annuum</i> con tratamientos de sequía. ....	86
Cuadro 14. Protocolo de amplificación para CaPIP1-1 y Chs mediante RT-qPCR. ....	86
Cuadro 15. Características de las soluciones de NaCl y control. ....	88
Cuadro 16. Fechas de aplicación de los tratamientos con NaCl. ....	88
Cuadro 17. Reactivos y metodología seguida para la determinación de la actividad de CAT en hojas de chile jalapeño sometidas a tratamientos salinos. ....	91
Cuadro 18. Concentraciones y reactivos para realizar la curva de calibración de ácido cinámico. ....	93
Cuadro 19. Resumen sobre la detección del estrés por sequía de acuerdo con los intervalos de B obtenidos para cada variable.....	132

Cuadro 20. Valores de p para la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk con $\alpha=0,05$ , utilizando residuos del modelo de regresión lineal para cada una de las variables involucradas. ....	133
Cuadro 21. Resumen sobre la detección del estrés por salinidad de acuerdo con los intervalos de $\beta$ obtenidos para cada variable. ....	163
Cuadro 22. Valores de p para la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk con $\alpha=0,05$ , utilizando residuos del modelo de regresión lineal para cada una de las variables involucradas. ....	163
Cuadro 23. Rangos de $\beta$ obtenidos para variables morfológicas, fisiológicas y bioquímicas por tratamiento de estrés por sequía y salinidad. ....	167

## Índice de figuras

Figura 1. Respuesta de las plantas a estrés abiótico (Adaptada de Khan et al., 2014).....	41
Figura 2. Ubicación del área experimental. ....	69
Figura 3. Diseño experimental de bloques al azar. Los números representan los tratamientos de sequía, siendo 1 sequía severa (40% CC), 2 sequía moderada (60% CC), 3 sequía ligera (80%CC) y 4 el grupo control (100% CC). .....	73
Figura 4. Cámara de intercambio de gases conectada a monitor para la estimación de fotosíntesis, transpiración, conductancia estomática e índice de presión de vapor. ....	75
Figura 5. Altura de <i>C. annuum</i> bajo diversas condiciones de sequía. SS: sequía severa (40% CC); SM: sequía moderada (60% CC); SL: sequía ligera (80% CC); NS: sin sequía (100% CC). Los resultados se expresan como la media ± el error estándar (n=20), $\alpha=0.05$ . ....	97
Figura 6. Diámetro del tallo de <i>C. annuum</i> bajo diversas condiciones de sequía. SS: sequía severa (40% CC); SM: sequía moderada (60% CC); SL: sequía ligera (80% CC); NS: sin sequía (100% CC). Los resultados se expresan como la media ± el error estándar (n=20), $\alpha=0.05$ . ....	98
Figura 7. Número de hojas de <i>C. annuum</i> bajo las diferentes condiciones de sequía. SS: sequía severa (40% CC); SM: sequía moderada (60% CC); SL: sequía ligera (80% CC); NS: sin sequía (100% CC). Los resultados se expresan como la media ± el error estándar (n=20), $\alpha=0.05$ . ....	99
Figura 8. Número de flores en plantas de <i>C. annuum</i> bajo las diferentes condiciones de sequía. SS: sequía severa (40% CC); SM: sequía moderada (60% CC); SL: sequía ligera (80% CC); NS: sin sequía (100% CC). Los resultados se expresan como la media ± el error estándar (n=20), $\alpha=0.05$ . ....	100
Figura 9. Número de frutos en plantas de <i>C. annuum</i> bajo las diferentes condiciones de sequía. SS: sequía severa (40% CC); SM: sequía moderada (60% CC); SL: sequía ligera (80% CC); NS: sin sequía (100% CC). Los resultados se expresan como la media ± el error estándar, $\alpha=0.05$ .....	100
Figura 10. Respuestas morfológicas de plantas de chile jalapeño frente al estrés por sequía. . Los resultados se expresan como la media ± el error estándar. Nivel de significancia ( $\alpha$ ) ****=0.01, ***=0.05, **=0.10, *=0.2, NS=No significativo.....	103
Figura 11. Efectos de condiciones de sequía sobre el rendimiento de <i>C. annuum</i> . a. Número promedio de frutos por planta; b. Masa promedio de frutos por planta; c. Diámetro ecuatorial promedio del fruto; d. Diámetro polar promedio del fruto. Los resultados se expresan como la media ± el error estándar. Nivel de significancia ( $\alpha$ ) ****=0.01, ***=0.05, **=0.10, *=0.2, NS=No significativo.....	105

Figura 12. Efecto del estrés por sequía sobre la fotosíntesis en plantas de chile jalapeño. ....	106
Figura 13. Efecto del estrés por sequía sobre la transpiración en plantas de chile jalapeño. ....	106
Figura 14. Efecto del estrés por sequía sobre la conductancia estomática en plantas de chile jalapeño. ....	107
Figura 15. Efecto del estrés por sequía sobre el déficit de presión de vapor (VPD) en plantas de chile jalapeño. ....	107
Figura 16. Índice de Vegetación de Diferencia Normalizada de plantas de <i>C. annum</i> sometidas a condiciones de estrés por sequía. SS: sequía severa (40% CC); SM: sequía moderada (60% CC); SL: sequía ligera (80% CC); NS: sin sequía (100% CC). Los resultados se expresan como la media $\pm$ el error estándar, $\alpha=0.05$ . ....	107
Figura 17. Efecto de las condiciones de estrés por sequía sobre las respuestas fisiológicas de plantas de chile jalapeño. a. Fotosíntesis; b. Transpiración; c. Conductancia estomática; d. Déficit de presión de vapor; e. Índice de vegetación de diferencia normalizada (NDVI). Los resultados se expresan como la media $\pm$ el error estándar. Nivel de significancia ( $\alpha$ ) ****=0.01, ***=0.05, **=0.10, *=0.2, NS=No significativo. ....	112
Figura 18. Contenido de prolina en hojas de chile jalapeño bajo condiciones de estrés por sequía durante un ciclo del cultivo. Los resultados se presentan como la media $\pm$ la desviación estándar. Las letras iguales para cada en cada día de tratamiento representan que no hay diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ( $\alpha=0.05$ ). ....	114
Figura 19. Actividad enzimática de la catalasa en muestras de hojas de chile jalapeño bajo condiciones de estrés por sequía. Los resultados se presentan como la media $\pm$ la desviación estándar. Las letras iguales para cada en cada día de tratamiento representan que no hay diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ( $\alpha=0.05$ ). ....	114
Figura 20. Actividad enzimática de la peroxidasa en muestras de hojas de chile jalapeño bajo condiciones de estrés por sequía. Los resultados se presentan como la media $\pm$ la desviación estándar. Las letras iguales para cada en cada día de tratamiento representan que no hay diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ( $\alpha=0.05$ ). ....	115
Figura 21. Actividad enzimática de la superóxido dismutasa en muestras de hojas de chile jalapeño bajo condiciones de estrés por sequía. Los resultados se presentan como la media $\pm$ la desviación estándar. Las letras iguales para cada en cada día de tratamiento representan que no hay diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ( $\alpha=0.05$ ). ....	116
Figura 22. Actividad enzimática de la fenilalanina amonio liasa en muestras de hojas de chile jalapeño bajo condiciones de estrés por sequía. Los resultados se	

presentan como la media ± la desviación estándar. Las letras iguales para cada en cada día de tratamiento representan que no hay diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ( $\alpha=0.05$ ) .....	117
Figura 23. Actividad enzimática de la ascorbato peroxidasa en muestras de hojas de chile jalapeño bajo condiciones de estrés por sequía. Los resultados se presentan como la media ± la desviación estándar. Las letras iguales para cada en cada día de tratamiento representan que no hay diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ( $\alpha=0.05$ ) .....	118
Figura 24. Efecto de las condiciones de estrés por sequía sobre las respuestas bioquímicas de plantas de chile jalapeño. a. Prolina; b. Actividad de catalasa (CAT); c. Actividad de superóxido dismutasa (SOD); d. Actividad de fenilalanina amonio liasa (PAL); e. Actividad de ascorbato peroxidasa (APX). Los resultados se expresan como la media ± el error estándar. Nivel de significancia ( $\alpha$ ) ****=0.01, ***=0.05, **=0.10, *=0.2, NS=No significativo. ....	122
Figura 25. Contenido de metabolitos en frutos de chile jalapeño. a. Capsaicinoides totales; b. Polifenoles totales; c. Flavonoides totales. Los resultados se expresan como la media ± el error estándar. Nivel de significancia ( $\alpha$ ) ****=0.01, ***=0.05, **=0.10, *=0.2, NS=No significativo.....	125
Figura 26. Expresión relativa de chalcona isomerasa (CHi) en hojas de plantas de chile jalapeño sometidas a tratamientos de estrés por sequía. Los resultados se presentan como la media ± la desviación estándar. Las letras iguales para cada en cada día de tratamiento representan que no hay diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ( $\alpha=0.05$ y $\alpha=0.2$ ) .....	127
Figura 27. Comportamiento de las respuestas morfo-fisiológicas y bioquímica acumuladas de plantas de <i>C. annuum</i> bajo condiciones de sequía. a. Altura acumulada por planta; b. Diámetro de tallo acumulado; c. Peso acumulado por planta; d. Fotosíntesis acumulada; e. Transpiración acumulada; f. Conductancia estomática acumulada; g. NDVI: índice de vegetación de diferencia normalizada acumulado; h. Prolina acumulada.....	128
Figura 28. Rangos de intervalos de la pendiente ( $\beta$ ) para la clasificación del estado de estrés por sequía de plantas de <i>Capsicum annuum</i> a partir de modelos de regresión lineal con variables acumuladas, para: a. Altura acumulada por planta; b. Diámetro de tallo acumulado; c. Peso acumulado por planta; d. Fotosíntesis acumulada; e. Transpiración acumulada; f. Conductancia estomática acumulada; g. NDVI: índice de vegetación de diferencia normalizada acumulado; h. Prolina acumulada. $R^2$ : Coeficiente de determinación; CI: Intervalo de confianza.....	131
Figura 29. Gráfica Q-Q normal para residuos de regresiones lineales utilizando la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk. a. Altura de la planta; b. Diámetro del tallo; c. Peso de la planta; d. Fotosíntesis; e. Transpiración; f. Conductancia estomática; g. NDVI: índice de vegetación de diferencia normalizada; h. Prolina.....	134

Figura 30. Efecto de NaCl 50, 75 y 100 mM sobre la altura de <i>C. annuum</i> . Los resultados se expresan como la media ± el error estándar (n=18 para control, NaCl 50 y 75 mM; n=9 para NaCl 100 mM).....	138
Figura 31. Efecto de NaCl 50, 75 y 100 mM sobre el diámetro del tallo de <i>C. annuum</i> . Los resultados se expresan como la media ± el error estándar (n=18 para control, NaCl 50 y 75 mM; n=9 para NaCl 100 mM).....	138
Figura 32. Efecto de NaCl 50, 75 y 100 mM sobre el número de flores por planta de <i>C. annuum</i> . Los resultados se expresan como la media ± el error estándar (n=18 para control, NaCl 50 y 75 mM; n=9 para NaCl 100 mM).....	139
Figura 33. Efecto de NaCl 50, 75 y 100 mM sobre el número de frutos por planta de <i>C. annuum</i> . Los resultados se expresan como la media ± el error estándar (n=18 para control, NaCl 50 y 75 mM; n=9 para NaCl 100 mM).....	140
Figura 34. Efecto de tratamientos con NaCl sobre respuestas morfológicas en <i>C. annuum</i> . A. Altura de la planta; b. Diámetro del tallo; c. Número de flores por planta; d. Número de frutos por planta. Los resultados se expresan como la media ± el error estándar. Nivel de significancia (α) ****=0.01, ***=0.05, **=0.10, *=0.2, NS=No significativo.....	141
Figura 35. Efecto de NaCl 50, 75 y 100 mM sobre la fotosíntesis en <i>C. annuum</i> . Los resultados se expresan como la media ± el error estándar (n=2 plantas por tratamiento).....	142
Figura 36. Efecto de NaCl 50, 75 y 100 mM sobre la transpiración en <i>C. annuum</i> . Los resultados se expresan como la media ± el error estándar (n=2 plantas por tratamiento).....	143
Figura 37. Efecto de NaCl 50, 75 y 100 mM sobre la conductancia estomática en <i>C. annuum</i> . Los resultados se expresan como la media ± el error estándar (n=2 plantas por tratamiento).....	144
Figura 38. Efecto de NaCl 50, 75 y 100 mM sobre el déficit de presión de vapor en <i>C. annuum</i> . Los resultados se expresan como la media ± el error estándar (n=2 plantas por tratamiento).....	145
Figura 39. Efecto de NaCl 50, 75 y 100 mM sobre NDVI en <i>C. annuum</i> . Los resultados se expresan como la media ± el error estándar (n=10 plantas por el control, 50 y 75 mM; n=9 para 100 mM). NDVI: Índice de Vegetación de Diferencia Normalizada.....	145
Figura 40. Efecto de la aplicación de NaCl sobre las respuestas fisiológicas de plantas de <i>C. annuum</i> a. Fotosíntesis; b. Transpiración; c. Conductancia estomática; d. Déficit de presión de vapor; e. Índice de vegetación de diferencia normalizada (NDVI). Nivel de significancia (α) ****=0.01, ***=0.05, **=0.10, *=0.2, NS=No significativo.....	149
Figura 41. Efecto de la aplicación de NaCl sobre el contenido de prolina en plantas de chile jalapeño. Los resultados se presentan como la media ± la desviación estándar. Las letras iguales para cada en cada día de tratamiento	

representan que no hay diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ( $\alpha=0.05$ ).....150

Figura 42. Efecto de la aplicación de NaCl sobre la actividad de catalasa (CAT) en plantas de chile jalapeño. Los resultados se presentan como la media  $\pm$  la desviación estándar. Las letras iguales para cada en cada día de tratamiento representan que no hay diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ( $\alpha=0.05$ ).....151

Figura 43. Efecto de la aplicación de NaCl sobre la actividad de superóxido dismutasa (SOD) en plantas de chile jalapeño. Los resultados se presentan como la media  $\pm$  la desviación estándar. Las letras iguales para cada en cada día de tratamiento representan que no hay diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ( $\alpha=0.05$ ).....152

Figura 44. Efecto de la aplicación de NaCl sobre la actividad de fenilalanina amonio liasa (PAL) en plantas de chile jalapeño. Los resultados se presentan como la media  $\pm$  la desviación estándar. Las letras iguales para cada en cada día de tratamiento representan que no hay diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ( $\alpha=0.05$ ).....153

Figura 45. Efecto de la aplicación de NaCl sobre la actividad ascorbato peroxidasa (APX) en plantas de chile jalapeño. Los resultados se presentan como la media  $\pm$  la desviación estándar. Las letras iguales para cada en cada día de tratamiento representan que no hay diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ( $\alpha=0.05$ ).....153

Figura 46. Efecto de los tratamientos con NaCl sobre variables bioquímicas en hojas de chile jalapeño. a. Contenido de prolina; b. Actividad de CAT; c. Actividad de SOD; d. Actividad de PAL; e. Actividad de APX. Los resultados se expresan como la media  $\pm$  el error estándar. Nivel de significancia ( $\alpha$ ) \*\*\*\*=0.01, \*\*\*=0.05, \*\*=0.10, \*=0.2, NS=No significativo. ....156

Figura 47. Efecto de la aplicación de NaCl sobre metabolitos secundarios en frutos de chile jalapeño. a. Capsaicinoïdes totales; b. Polifenoles totales; c. Flavonoides totales. Los resultados se expresan como la media  $\pm$  el error estándar. Nivel de significancia ( $\alpha$ ) \*\*\*\*=0.01, \*\*\*=0.05, \*\*=0.10, \*=0.2, NS=No significativo. GAE: Equivalentes de ácido gálico. QE: Equivalentes de quer cetina. ....158

Figura 48. Comportamiento de las respuestas morfo-fisiológicas y bioquímica acumuladas de plantas de *C. annuum* bajo condiciones de salinidad. a. Altura acumulada por planta; b. Diámetro de tallo acumulado; c. Fotosíntesis acumulada; d. Transpiración acumulada; e. Conductancia estomática acumulada; f. Déficit de presión de vapor (VPD) acumulado; g. NDVI: índice de vegetación de diferencia normalizada acumulado; h. prolina acumulada.....160

Figura 49. Rangos de intervalos de la pendiente ( $\beta$ ) para la clasificación del estado de estrés por salinidad de plantas de *Capsicum annuum* a partir de modelos de regresión lineal con variables acumuladas, para: a. Altura acumulada por planta; b. Diámetro de tallo acumulado; c. Fotosíntesis acumulada; d. Transpiración

acumulada; e. Conductancia estomática acumulada; f. Déficit de presión de vapor (VPD) acumulado; g. NDVI: índice de vegetación de diferencia normalizada acumulado; h. Prolina acumulada.  $R^2$ : Coeficiente de determinación; CI: Intervalo de confianza.....162

Figura 50. Gráfica Q-Q normal para residuos de regresiones lineales utilizando la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk. a. Altura de la planta; b. Diámetro del tallo; c. Fotosíntesis; d. Transpiración; e. Conductancia estomática; f. Déficit de presión de vapor (VPD); g. Índice de vegetación de diferencia normalizada (NDVI); h. Prolina.....164

## Abreviaturas y siglas

- Ascorbato peroxidasa (APX)
- Capacidad de campo (CC)
- Catalasa (CAT)
- Conductancia estomática ( $G_s$ )
- Coeficiente de determinación ( $R^2$ )
- Déficit de presión de vapor (VPD)
- Días de tratamiento (DT)
- Fenilalanina amonio liasa (PAL)
- Fotosíntesis ( $P_n$ )
- Índice de vegetación de diferencia normalizada (NDVI)
- Intervalo de confianza (CI)
- Peroxidasa (POD)
- Prolina (Pro)
- Puertas programables en campo (FPGA)
- Sequía ligera (SL)
- Sequía moderada (SM)
- Sequía severa (SS)
- Sin sequía (NS)
- Superóxido dismutasa (SOD)

## ii. Resumen

El chile jalapeño es un cultivo susceptible a sequía y salinidad, con pérdidas de rendimiento entre 50 y 70%. La detección temprana de condiciones de sequía y salinidad en cultivos a través del monitoreo de respuestas morfológicas, fisiológicas y bioquímicas a estos tipos de estrés abiótico, así como la identificación de variables para estudiar sus efectos es esencial para prevenir pérdidas de rendimiento, optimizar el uso del agua y establecer estrategias de manejo del cultivo. Esta investigación tuvo como objetivo establecer modelos matemáticos para describir variables morfológicas, fisiológicas y bioquímicas en cultivo de chile jalapeño (*Capsicum annuum* L. variedad M.), sometidos a estrés por sequía y salinidad, durante su ciclo fenológico y bajo condiciones de invernadero, con el propósito de lograr la detección temprana de dicho estrés en dicho cultivo. Plantas de chile jalapeño se sometieron a cuatro niveles de sequía (40, 60, 80 y 100% de capacidad de campo) y a 4 niveles de salinidad (0, 50, 75 y 100 mM), desde la etapa vegetativa hasta la etapa de fructificación.

Las variables morfológicas medidas fueron el diámetro basal del tallo, la altura de la planta, las variables fisiológicas medidas fueron fotosíntesis, transpiración, conductancia estomática, déficit de presión de vapor y el índice de vegetación de diferencia normalizada (NDVI) cada tres días para los experimentos de sequía y cada semana para los experimentos de salinidad; las variables bioquímicas medidas fueron la concentración de prolina, así como la actividad de CAT, SOD, POD, APX, y PAL cada dos semanas. Se obtuvieron regresiones lineales por mínimos cuadrados de las respuestas morfológicas, fisiológicas y bioquímicas acumuladas para cada nivel de sequía y salinidad, y se utilizaron valores  $\beta$  (pendiente de la ecuación generada por regresiones lineales) como estimador de estrés utilizando el método de estimación de intervalos.

Las plantas de chile jalapeño mostraron diferentes respuestas morfológicas, fisiológicas y bioquímicas frente a los niveles de sequía y salinidad evaluadas

durante diferentes etapas de su ciclo fenológico, mostrando una mayor sensibilidad al estrés por sequía que al estrés salino.

Los valores  $\beta$  del modelo para la fotosíntesis permitió la distinción entre todas las condiciones de sequía evaluadas (intervalo de confianza de 95%). En el caso de la sequía, los valores de  $\beta$  para la altura permitieron la distinción de los niveles de NaCl de 0 y 75 mM, y bajo ciertos rangos permitió la distinción de NaCl a 50 y 100 mM (intervalo de confianza de 80%).

El conocimiento generado mediante esta investigación podría ser útil para la agricultura de precisión, el desarrollo de sensores y la gestión del agua. Además, se podría explorar la aplicación del método propuesto para detectar y clasificar el estrés por sequía en otras especies vegetales, contribuyendo al desarrollo de sistemas agrícolas resilientes. También, se podría evaluar la interacción de las respuestas monitoreadas para establecer otros modelos matemáticos para mejora de la productividad agrícola.

**Palabras clave:** Chile jalapeño; indicador de estrés; modelo de regresión lineal; sequía; salinidad.

### iii. Abstract

Jalapeno pepper is a crop susceptible to drought and salinity, with yield losses of between 50 and 70%. Early detection of drought and salinity conditions in crops through monitoring of morphological, physiological and biochemical responses to these types of abiotic stress and identifying variables to study their effects is essential to prevent yield losses, optimize water use and establish crop management strategies. This research aimed to develop mathematical models using morphological, physiological and biochemical variables, which allow the detection of drought and salinity stress in *Capsicum annuum* L. variety M. crops during their phenological cycle and under greenhouse conditions. Jalapeño pepper plants were subjected to four levels of drought (40, 60, 80, and 100% of field capacity) and four levels of salinity (0, 50, 75, and 100 mM) from the vegetative stage to the fruiting stage.

Morphological, physiological, and biochemical responses of jalapeño pepper to drought and salinity conditions were monitored throughout a phenological cycle of the crop. Basal stem diameter, plant height, photosynthesis, transpiration, stomatal conductance, vapour pressure deficit, and normalized difference vegetation index (NDVI) were estimated every three days for drought experiments and every week for salinity experiments; proline concentration, as well as CAT, SOD, POD, APX, and PAL activity were estimated every two weeks. Linear least squares regressions of the accumulated morphological, physiological and biochemical responses for each drought and salinity level were obtained, and  $\beta$  values (slope of the equation generated by linear regressions) were used as an estimator of stress for these types of stress using the interval estimation method.

Jalapeno pepper plants showed different morphological, physiological and biochemical responses to the levels of drought and salinity evaluated during various stages of their phenological cycle, showing greater sensitivity to drought stress than salinity stress.

The  $\beta$  values of the model for photosynthesis allowed the distinction between all the drought conditions evaluated (95% confidence interval). In the case of drought, the  $\beta$  values for height allowed the distinction of NaCl levels of 0 and 75 mM, and under specific ranges the distinction of NaCl at 50 and 100 mM (80% confidence interval).

The knowledge generated through this research could be helpful for precision agriculture, sensor development and water management. In addition, the application of the proposed method to detect and classify drought stress in other plant species could be explored. Also, the interaction of the monitored responses could be evaluated to establish other mathematical models.

**Keywords:** Jalapeno pepper; stress indicator; linear regression model; drought; salinity.

## I. Introducción

El sector agrícola enfrenta el reto de suprir las necesidades alimentarias de una población en crecimiento. Según la Organización de las Naciones Unidas, para el año 2050 se espera que haya en el mundo alrededor de 9.7 billones de personas, 2.0 millones más que en 2019 (United Nations, 2019). Ante este incremento poblacional, se estima un aumento en la demanda de alimentos del 35 al 56% respecto al año 2010 (Van Dijk, 2021), así como una mayor necesidad de oferta del 60 al 70% (Silva, 2018). Según el Instituto de Recursos Mundiales, con la finalidad de satisfacer la demanda de alimentos estimada para el 2050, la agricultura requiere de 593 millones de hectáreas de tierras cultivables adicionales respecto a 2010 (World Resources Institute, 2018), lo cual equivale a tres veces el territorio mexicano. Esta situación ha provocado la necesidad de expandir la producción agrícola a zonas donde se presenta escasez de agua y salinidad, que reducen la productividad de los cultivos y es una limitante para garantizar la seguridad alimentaria de la población (Coleman-Derr & Tringe, 2014).

La sequía y la salinidad son los principales factores abióticos que reducen la productividad de los cultivos en todo el mundo. La sequía hace referencia a un tipo de estrés abiótico o ambiental, caracterizado por la reducción de la disponibilidad de agua para las plantas durante un periodo de tiempo prolongado (Y. N. Butt et al., 2017). De otro lado, la salinidad hace alusión a altas concentraciones de sales en el suelo (alrededor de 40 mM NaCl) a 25 °C (Shrivastava & Kumar, 2015). Tanto el déficit de agua, como la excesiva cantidad de sales en el suelo, provocan pérdidas en la producción que oscilan del 20 al 50% (Shrivastava & Kumar, 2015). Ambos tipos de estrés afectan los procesos fisiológicos, bioquímicos y moleculares de las plantas, lo que conduce a una disminución en la fotosíntesis, reducción del crecimiento y pérdidas de rendimiento (Abdelraheem et al., 2019).

Por otro lado, uno de los cultivos de interés comercial que se ve afectado por este tipo de factores es el de chile (*Capsicum annuum*). El chile es uno de los cultivos de mayor importancia económica a nivel mundial (Kang et al., 2020), el cual pertenece

al género *Capsicum* y la familia *Solanaceae* (Idrees et al., 2020). Es un cultivo originario del sur de América del Norte y del norte de América de Sur (Shamya et al., 2020), y ampliamente cultivado en el mundo, en regiones templadas y tropicales (Swamy et al., 2017). Su fruto, también llamado pimiento, es rico en vitamina C y complejo B, minerales, aceites esenciales y capsaicina; y usado tradicionalmente como condimento debido a su sabor, color y pungencia (Baenas et al., 2019). Al igual que otros cultivos, el chile se ve amenazado por diversas condiciones ambientales como la sequía y la salinidad, las cuales afectan negativamente su calidad y productividad (Kang et al., 2020).

Con la finalidad de mitigar los efectos del estrés por sequía y salinidad, y reducir las pérdidas que ocasionan en los cultivos, se han realizado diversas investigaciones. Desde la fisiología vegetal, se han identificado variables como la tasa fotosintética y la tasa de transpiración, conductancia estomática y déficit de presión de vapor, etc. (Millan-Almaraz et al., 2013). En el ámbito de la bioquímica vegetal, en el caso de especies vegetales como el chile, se han estudiado variables bioquímicas como cantidad de capsaicinoides (Sung et al., 2005), prolina (Sahitya et al., 2018), especies reactivas de oxígeno (Deng et al., 2012) y actividades de enzimas antioxidantes (Wang et al., 2018), ácido abscísico y carbohidratos (Kumar et al., 2018). Desde el enfoque de la genética vegetal, se ha investigado en torno a la expresión de genes asociados a sequía y salinidad (Acosta-García et al., 2015; Kumar et al., 2018). De otra parte, se ha intentado establecer estrategias de manejo de sequía y salinidad a partir de la modelación matemática, siendo esta “una herramienta que permite simular los procesos físicos mediante alguna estructura, dispositivo, esquema o procedimiento, para lograr la representación simplificada del sistema, y llegar a conocer, analizar y cuantificar los sistemas reales” (Hammerly, 2006).

Como resultado de estas investigaciones se han desarrollado técnicas como la aplicación de fitohormonas, el uso de osmoprotectores en las semillas, la ingeniería genética para la producción de plantas resistentes al estrés y métodos de selección basados en marcadores moleculares (Anderson & Morris, 2001; Butt et al., 2017).

Sin embargo, a pesar de estos avances, su implementación implica altos costos, tiempos prolongados y trabajos intesivos, y a menudo se descuida el complejo contexto ecológico del entorno del suelo en el que se cultivan las plantas (Coleman-Derr & Tringe, 2014). Además, aún hay mecanismos que no se comprenden debido a la complejidad entre las condiciones de estrés, caracterización de sus efectos, y a factores ambientales cambiantes poco estudiados durante todo el ciclo fenológico de un cultivo (Abdelraheem et al., 2019).

Ante este panorama, se plantea realizar un monitoreo constante de variables morfológicas (altura de la planta, diámetro basal del tallo, número de hojas y frutos, masa de las plantas) fisiológicas (fotosíntesis, transpiración, déficit de presión de vapor y conductancia estomática), bioquímicas (capsaicinoides, prolina, ácido abscísico, y actividad de enzimas antioxidantes), y genéticas (expresión de genes asociados con sequía y salinidad) en plantas de chile jalapeño crecidas bajo invernadero y sometidas a diferentes condiciones de sequía y salinidad. Se propone integrar estas variables en modelos matemáticos, junto con variables ambientales, que sean robustos y precisos, y permitan describir el estado hídrico y salino de las plantas. Esto facilitará la toma de decisiones para el manejo eficiente del cultivo y del agua.

## **II. Antecedentes**

### **2.1. Sequía**

La sequía es un fenómeno meteorológico global caracterizado por la ausencia de lluvias durante períodos prolongados que puede durar desde pocas semanas hasta varios años y presentarse de manera recurrente, lo que provoca escasez de agua (United Nations, 2022). La ausencia de lluvias y escasez de agua provocan sequía agrícola, la cual hace referencia a la condición en la que el suelo presenta un nivel inadecuado de humedad para satisfacer las demandas hídricas de las plantas (Boken et al., 2005). A nivel global, la sequía es un factor de estrés abiótico de gran importancia y preocupación, ya que limita la producción agrícola al alterar el crecimiento y las relaciones hídricas de las plantas, reduce la eficiencia en el uso del agua, y dificulta la absorción de nutrientes (Farooq et al., 2012; Mariani & Ferrante, 2017), lo que resulta en un aumento de los costos de producción y menor suministro de alimentos (Chieb & Gachomo, 2023)

Las plantas responden al estrés por sequía a través de diferentes mecanismos de defensa a nivel morfológico, fisiológico y bioquímico, que incluyen disminución del número de hojas y área foliar, aumento del tamaño de las raíces, alteraciones en la actividad estomática, fotosíntesis y transpiración, así como acumulación de prolina, aumento en el contenido de metabolitos secundarios e incremento en la actividad de enzimas antioxidantes (Oguz et al., 2022; Salehi-Lisar & Bakhshayeshan-Agdam, 2016; Yang et al., 2021).

La detección y monitoreo del estrés por sequía es fundamental para prevenir pérdidas de rendimiento y mejorar la productividad de un cultivo (Dao et al., 2021). La medición de las diversas respuestas morfológicas y fisiológicas de las plantas al estrés por sequía, al igual que de biomoléculas asociadas a la sequía, se considera apropiada para detectar y monitorear este tipo de estrés (Acosta-Navarrete et al., 2014; Javornik & Carovi, 2023; Munné-Bosch & Villadangos, 2023), además de ser de utilidad para conocer la dinámica entre el desarrollo de las plantas y su estado hídrico (Asseng et al., 2014; Mahallati, 2020). Actualmente, se utilizan diversos métodos y herramientas para monitorear los efectos del estrés por sequía en la

agricultura, entre los que se encuentran los métodos basados en la medición de la humedad del suelo mediante sensores o sondas (Paim et al., 2020; Widuri et al., 2020), aquellos basados en las características morfológicas como diámetro de tallo y fruto (Meng et al., 2017) y fisiológicas como el potencial hídrico de las hojas, conductancia estomática y contenido de clorofila (Goto et al., 2021); y los métodos de sensado remoto, como el uso de NIR para obtener el índice de vegetación diferenciada (NDVI) (Iluoma & Madramootoo, 2019a, 2019b).

Algunas investigaciones se han enfocado en la detección precisa del estrés por sequía en cultivos de tomate, trigo, y pasto bromo liso. Dao et al., (2021) compararon la integración de imágenes hiperespectrales de resolución espacial ultraalta y aprendizaje automático, contra índices de monitoreo biofísico y bioquímico (por ejemplo, NDVI). Los autores lograron la detección precisa de la sequía en pasto bromo liso (*Bromus inermis*) utilizando imágenes hiperespectrales de resolución espacial ultraalta y aprendizaje automático, mientras que con los índices espectrales no lograron detectar el estrés u obtuvieron una precisión menor; la adquisición de las imágenes se realizó cada tercer día, durante 24 días.

Long & Ma (2022) establecieron un método para monitorear e identificar condiciones de estrés por sequía en plántulas de tomate usando imágenes de fluorescencia de la clorofila; las mediciones fueron realizadas 5 días después de la imposición del estrés por sequía.

Gupta et al., (2023) propusieron construir un modelo de automatización para la detección de estrés hídrico en cultivos de trigo, integrando modelos de investigaciones previas e imágenes de fluorescencia de la clorofila obtenidas de un repositorio público.

Javornik & Carovi (2023) monitorearon algunas respuestas morfológicas y fisiológicas de plantas de frijol común al estrés por sequía mediante métodos de fenotipado (imágenes de fluorescencia de clorofila, imágenes multiespectrales, y escaneo multiespectral 3D); el monitoreo se realizó diariamente durante 5 días desde la imposición del estrés.

Weng et al., (2023) propusieron un método preciso y confiable para la identificación del estrés por sequía en plántulas de tomate cherry utilizando múltiples funciones de imágenes hiperespectrales; el estudio no reporta el periodo en el que se adquirieron las imágenes.

Este tipo de técnicas y modelos no se han reportado para su aplicación en la detección del estrés por sequía en cultivos de chile jalapeño, aun siendo uno de los principales cultivos mayormente sensibles al estrés por sequía.

En el Cuadro 1 se resumen una serie de investigaciones dirigidas a estudiar el efecto de distintas condiciones de estrés por sequía sobre algunas variables fisiológicas, bioquímicas y/o genéticas en diversos cultivos vegetales.

Cuadro 1. Investigaciones realizadas sobre el efecto de condiciones de sequía en diferentes cultivos vegetales.

Especie vegetal	Inducción del estrés	Tipo de variables	Variables medidas	Tiempo de determinación	Referencia
<b>Manzano (<i>Malus domestica</i>)</b>	80, 60 y 40% de humedad en el suelo	Fisiológicas y bioquímicas	Intercambio de gases, fluorescencia de clorofila, ROS, actividad enzimática de POD, CAT, SOD, APX, y proteína D1	Días 5 y 36 después del tratamiento de estrés y 14 después de rehidratación	(Wang et al., 2018)
<b>Chile (<i>Capsicum annuum L.</i>)</b>	Supresión de riego (13-30 DDS)	Fisiológicas	Transpiración y contenido de agua	Diariamente durante 36 DDS	(Dalal et al., 2019)
<b>Chile (<i>Capsicum annuum L.</i>)</b>	100 y 40% de CC	Bioquímicas	Contenido fenólico, actividad enzimática de PAL, POD y CAT, y proteínas del apoplasto	No reportado	(Jaswanthi et al., 2019)
<b>Soya (<i>Glycine max L.</i>)</b>	75, 50 y 35% de CC	Fisiológica, bioquímicas y genéticas	Fotosíntesis, contenido relativo de agua, azúcares solubles, sacarosa, almidón, actividad enzimática de $\alpha$ -amilasa y $\beta$ -amilasa, y expresión genética usando como referencia los genes GmEF1a y GmEF1b	Cada 3 días durante los primeros 15 días después de inducir el estrés	(Du et al., 2020)
<b>Trigo (<i>Triticum aestivum</i>), Triticale (<i>Triticosecale wittmack</i>) y Frijol común (<i>Phaseolus vulgaris L.</i>)</b>	Regímenes de agua de 187, 304, 410 y 535 mm	Composición química y rendimientos de granos	Contenido de humedad, proteína, minerales, lípidos y cenizas	Final del ciclo fenológico	(Silva et al., 2020)

ROS: Especies reactivas de oxígeno DDS: Días después de la siembra; PAL: fenilalanina amonio liasa; POD: peroxidasa; CAT: catalasa; SOD: superóxido dismutasa; APX: ascorbato peroxidasa; C.C: Capacidad de campo.

## 2.2. Salinidad

La producción de alimentos de origen agrícola se ha visto limitada por el incremento de factores ambientales como el calor, sequía y salinidad, debido a que provocan estrés en las plantas, afectando su metabolismo, crecimiento, desarrollo y productividad (Hasan et al., 2018; Verma et al., 2013). Uno de los principales factores de estrés que afecta a las plantas es la salinidad del suelo, la cual es una medida de los minerales y sales que se pueden disolver en el agua, siendo los más comunes en soluciones de suelo los iones minerales  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{SO}_4^{=}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{++}$ , y  $\text{NO}_3^-$ . En suelos salinos se ha encontrado principalmente cloruro de sodio ( $\text{NaCl}$ ), sin embargo, también se ha reportado la presencia de sales solubles como sulfatos de sodio y magnesio ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y  $\text{MgSO}_4$ ) (Iqbal, 2003). La salinidad del suelo es determinada mediante la medición de la conductividad eléctrica (Artiola et al., 2019), considerándose salino a partir de 4 dS/m (Karthika & Govintha, 2022; Omuto et al., 2021), lo que equivale a aproximadamente 40 mM de  $\text{NaCl}$  (Shrivastava & Kumar, 2015).

La salinidad de suelos es un problema mundial que afecta a la agricultura, debido a que provoca disminución del rendimiento de los cultivos de hasta el 50 %, y se genera principalmente por acciones humanas como deforestación, agricultura y sobrepastoreo (SADER, 2021). En México, la salinización de suelos agrícolas es uno de los problemas más serios que enfrenta el sector agrícola, según la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT), el 47 % de los suelos agrícolas de temporal (dependiente del agua de lluvia) y el 53 % de los suelos donde se suministra riego, se encuentran afectados por salinidad, principalmente en los estados de San Luis Potosí, Tamaulipas, Zacatecas, Chihuahua, Sonora, Coahuila, Durango y Veracruz, y algunos del centro del país (Fernández, 2022).

La acumulación excesiva de sales en el suelo puede provocar baja absorción de agua, deficiencia de nutrientes y toxicidad en las plantas (SADER, 2021); lo anterior conlleva a que las plantas sufran una serie de modificaciones a nivel morfológico (reducción del tamaño de brotes y raíces, clorosis), fisiológico (inhibición de la fotosíntesis, cierre de los estomas, bajo potencial osmótico, reducción del contenido

de agua), y bioquímico (incremento de la generación de especies reactivas de oxígeno, cambios en la actividad de enzimas antioxidantes, incremento en la cantidad de prolina, desbalance de minerales); esta serie de cambios en las plantas conducen a una menor acumulación de biomasa y a la reducción de la productividad de los cultivos (Hasanuzzaman, 2022; Kibria & Hoque, 2019).

Diversas investigaciones han demostrado que la alta salinidad afecta tanto la calidad como la composición química de varios productos vegetales (Rouphael et al., 2018). Las plantas que se desarrollan en ambientes con exceso de sales, como el cloruro de sodio ( $\text{NaCl}$ ) suelen presentar cambios morfológicos, bioquímicos, fisiológicos y metabólicos que afectan significativamente su crecimiento, y por lo tanto, el rendimiento y calidad del cultivo (Petropoulos et al., 2017; Rouphael et al., 2017).

En zonas secas y calurosas, la alta evapotranspiración provoca que la planta pierda cantidades sustanciales de agua, dejando sal alrededor de las raíces y ello interfiere con su capacidad de absorción de agua (Rao et al., 2016). Por otro lado, la salinidad perjudica el crecimiento y desarrollo de las plantas mediante el estrés hídrico, el desequilibrio nutricional y la citotoxicidad, esta última debido a la absorción excesiva de iones como el sodio ( $\text{Na}^+$ ) y el cloruro ( $\text{Cl}^-$ ) (Khan et al., 2007; Isayenkov y Maathuis, 2019). Además, el estrés por salinidad puede provocar estrés oxidativo por la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) (Isayenkov, 2012). Altas concentraciones de sal en la raíz afectan el crecimiento y rendimiento de muchos cultivos comerciales (Taffouo et al., 2009). Así, la salinidad reduce la disponibilidad de agua y la absorción de nutrientes.

Se han discutido y estudiado los efectos del estrés ocasionado por la salinidad y la respuesta de las plantas a estos. En el Cuadro 2 se resumen una serie de investigaciones dirigidas a estudiar el efecto de distintas condiciones de estrés por salinidad sobre algunas variables fisiológicas, bioquímicas y/o genéticas en diversos cultivos vegetales.

Cuadro 2. Investigaciones realizadas sobre el efecto de condiciones de salinidad en diferentes cultivos vegetales.

Espezie vegetal	Inducción del estrés	Tipo de variables	Variables medidas	Tiempo de determinación	Referencia
<b>Chile</b> <i>(Capsicum annuum L.)</i>	0, 50 y 100 mM NaCl	Fisiológicas, bioquímicas y genéticas	<b>Experimento 1:</b> Tasa fotosintética, CO <sub>2</sub> intercelular, conductancia estomática, transpiración. Peso seco, actividad enzimática de SOD y MDA	Día 21 después de inducir estrés. Día 30 (peso seco y actividades enzimáticas.	(Azuma et al., 2010)
			<b>Experimento 2:</b> Peso seco, contenido de ácido ascórbico, azúcares y de NaCl. Expresión del gen GalLDH	Días 0, 1, 4, 7, 14 y 21 después del tratamiento	
<b>Chile</b> <i>(Capsicum annuum L.)</i>	1.5, 4.5, y 6.5 dS m <sup>-1</sup>		Eficiencia del uso de agua y nitrógeno, y rendimiento de frutos	Crecimiento vegetativo y fructificación. No se presenta tiempo de medición	(Huez-López et al., 2011)
<b>Canola</b> <i>(Brassica napus L.)</i>	0, 50, 100, 150 y 200 mM NaCl	Morfológicas y bioquímica	Germinación (% y velocidad), tamaño de brote y raíz, materia seca	Etapa de germinación	(Bybordi, 2010)
			Contenido de prolina, Cl, Na, K, P, y N, rendimientos	Día 60 después de la inducción del estrés	
<b>Soya</b> <i>(Glycin max)</i>	0, 4, 8, 12 y 16 dS m <sup>-1</sup>		Germinación (%), peso fresco y tamaño de brotes y raíces, contenido de Na <sup>+</sup> y K <sup>+</sup> en brotes y raíces	Etapa de germinación	(Farhoudi & Tafti, 2015)
<b>Chile</b> <i>(Capsicum frutescens L.)</i>	0, 2, 4, 6, 8, 10 y 12 g L <sup>-1</sup> NaCl		Longitud de la raíz, número de y área de hojas, contenido y fluorescencia de clorofila, prolina	Durante 60 días	(Zhani et al., 2012)

<b>Maíz</b> <i>(Zea mays L.)</i>	1, 50 y 100 mM NaCl	Peso fresco, longitud del brote y raíz, fluorescencia de la clorofila, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 1,4-benzoxazin-3-ona, ácido jasmónico	Días 1, 3 y 5 en plantas de 8 días de edad	(Forieri et al., 2016)	
<b>Tomate</b> <i>(Solanum lycopersicum L.)</i>	0, 10 y 150 mM NaCl	Morfológicas, fisiológicas y bioquímicas	Peso seco, y área foliar; contenido de clorofila, fotosíntesis, conductancia estomática, contenido de Na <sup>+</sup> y K, prolina, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , CAT, APX, GPX	Día 7 y 21, en plántulas de 21 días	(Kamanga et al., 2020)

SOD: superóxido dismutasa; MDA: malondialdehído; CAT: catalasa; APX: ascorbato peroxidasa; GPX: glutatión peroxidasa.

### **2.3. Modelos matemáticos**

Un modelo es una representación simplificada de un sistema, definiéndose este último como una parte limitada de la realidad que contiene elementos interrelacionados. Por otra parte, la simulación es el arte de construir modelos matemáticos y el estudio de sus propiedades en referencia a las de los sistemas (Lascano, 1991). Un modelo matemático es una ecuación o un conjunto de ecuaciones que representa el comportamiento de un sistema (Lascano, 1991). Se considera a los modelos matemáticos como una herramienta que permite aproximarse al comportamiento real de un sistema, pudiendo ser este un sistema vivo (plantas, animales) o no vivo (motores, transformadores) (Velten, 2009). Dichos modelos se pueden clasificar en modelos matemáticos de caja blanca, caja negra o caja gris.

Los modelos matemáticos de caja blanca se refieren a modelos analíticos los cuales tratan de representar todos los procesos involucrados en el proceso y están basados en ecuaciones que se conocen completamente. Los modelos matemáticos de caja negra son aquellos en los cuales no se conocen las ecuaciones que describen al sistema, no obstante, se aproximan a su comportamiento de buena manera. Generalmente, este tipo de modelos hacen uso de algoritmos basados en inteligencia artificial y aprovechan de la capacidad de cómputo, la cual es cada vez mayor. Mientras que los modelos matemáticos de caja gris son modelos que combinan tanto modelos de caja negra, como modelos de caja blanca, y en los cuales ciertos procesos son modelados mediante ecuaciones conocidas y otros procesos son modelados mediante modelos empíricos, cuyas ecuaciones no se conocen. Debido a los avances tecnológicos en el área de la computación, los modelos matemáticos de caja negra han tenido un gran auge, ya que permiten modelar sistemas altamente no lineales de muy buena manera mediante el empleo de una gran cantidad de datos, cosa que muchas veces no es posible con modelos de caja blanca o caja gris (Velten, 2009).

#### **2.3.1. Modelos utilizados para medir estrés por sequía y salinidad**

El crecimiento poblacional, la necesidad de ofrecer mayor cantidad de alimentos y los recursos hídricos limitados exigen el uso de recursos hídricos de calidad

marginal y/o un manejo deficitario de riego. La aplicación de riego deficitario para ahorrar agua provoca la acumulación gradual de sal en el suelo y en las raíces de las plantas; problema que se agrava al utilizarse aguas de baja calidad tales como aguas residuales, domésticas, agrícolas. Esto genera ambientes en los que las plantas están bajo estrés por agua y salinidad (Dudley & Shani, 2003; Babazadeh et al., 2017).

Por lo anterior, la estimación de la absorción de agua es fundamental para realizar predicciones de las respuestas de los cultivos, determinar los impactos de la agricultura de riego sobre la calidad del agua subterránea y superficial, además de permitir la extensión de diversos modelos a entornos no agrícolas (Dudley & Shani, 2003). En lugares que presentan escasez de agua es fundamental la gestión eficiente de la misma y la programación de riegos precisos en los cultivos, para lo que se requiere una cuantificación precisa del uso de agua bajo condiciones de estrés hídrico y salino (Hu et al., 2020).

El déficit de riego y la acumulación de sales en la producción de cultivos dependen de la integración de factores como la variedad de las plantas, la frecuencia del riego, propiedades fisicoquímicas del suelo, el clima y la química del agua de riego. Con la finalidad de proporcionar una alternativa al proceso de probar en campo los esquemas de gestión del riego para optimizar el uso de agua para la producción de cultivo y la protección del suelo y de los recursos hídricos, se han desarrollados modelos hidroquímicos que simulan la interacción de los factores mencionados previamente, basados específicamente en la transpiración (Dudley & Shani, 2003).

Debido a que la transpiración suele ser el componente dominante en la acumulación de agua en zonas áridas y semiáridas y, que como tal, tiene un efecto de gran relevancia sobre el flujo del agua y el transporte de contaminantes en entornos naturales y agrícolas, la eficiencia de los modelos de simulación y predicción del movimiento del agua y de la sal, depende de su capacidad para predecir la transpiración (Dudley & Shani, 2003). Diferentes modelos han sido desarrollados basados en el componente de transpiración para el manejo del riego,

por ejemplo: SWB, BUDGET, OSIRI, SWAT, SWAP, PILOTE, AquaCrop, etc. Estos modelos de simulación describen matemáticamente los procesos de equilibrio hídrico del suelo, crecimiento de las plantas y expresión del rendimiento para determinar su evolución durante el período de simulación (Abazi et al., 2013).

### **2.3.2. Modelos y herramientas para gestionar el riego de cultivos agrícolas**

Se han desarrollados diversos modelos para el riego de cultivos agrícolas. En el Cuadro 3 se muestran algunas investigaciones realizadas en diferentes cultivos agrícolas, donde se presentan las variables medidas a las plantas y que fueron involucradas al modelo, su tiempo de medición y el uso asignado a cada modelo.

Cuadro 3. Resumen de modelos matemáticos aplicados a cultivos con estrés por sequía y salinidad.

Modelo	Material vegetal sobre el que se aplica el modelo	Variables medidas de la planta	Tiempo de medición	Usos	Referencia
SWB	Frijol seco ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	Altura de la planta. Materia seca (recolección de hojas, tallos y vainas).	Cada 7 días, a partir 30, 37, 43, 58, 72, 86 y 99 DAP.	Programar riegos. Estimación rendimiento del cultivo.	(Mathobo et al., 2018)
BUDGET	Trigo de invierno ( <i>Triticum aestivum</i> L.)	Área foliar. Ninguna, para el modelo solamente tienen en cuenta precipitación y riego como variables de entrada y evapotranspiración del suelo y percolación como variables de salida.	Diariamente.	Medición del cambio de agua almacenada en la zona de la raíz.	(Raes et al., 2006)
	Maíz ( <i>Zea mays</i> L.)	Ninguna, miden:		Estimación rendimiento de los cultivos.	
SWAT	Trigo de invierno ( <i>Triticum aestivum</i> L.)	Humedad del suelo.	Cada 5 días.	Simulación del crecimiento de cultivos y movimiento de agua.	(Luo et al., 2008)
	Maíz ( <i>Zea mays</i> L.)	Profundidad del nivel freático. Usan base de datos de área foliar y biomasa.			
SWAP	Maíz ( <i>Zea mays</i> L.)	Biomasa. Área foliar.	Cada 15-20 días Cada 7 días por 12 meses.	Simulación del proceso agua-calor del suelo y el crecimiento del cultivo.	(Zhao et al., 2020)
	Caña de azúcar ( <i>Saccharum</i> spp.)	Ninguna, miden: Evapotranspiración y drenaje por debajo de la zona radicular de las plantas.	No especificado.	Programación y el seguimiento del riego por aspersión o por goteo.	
AquaCrop	Cultivos de secano	Tiempo de emergencia fenología del cultivo	No especificado.	Predicción del rendimiento del cultivo y el requerimiento	(Kanda et al., 2020)

		Área foliar Biomasa	estacional de agua del cultivo.		
		Profundidad efectiva de enraizamiento			
		Temperatura foliar			
<b>AquaCrop</b>	Tomate híbrido (UG812J)	Índice de estrés hídrico del cultivo	Mitad de temporada 2018 y 2019	Simulación de rendimiento	(Takae et al., 2021)
		Biomasa Área foliar			
<b>Aquacrop</b>	Pepino (Karim)	Peso de las hojas Índice del área foliar	Cada semana, durante 13 semanas.	Simulación del rendimiento de cultivos bajo condiciones de invernadero con un sistema hidropónico	(Khafajeg et al., 2021)
		Rendimiento del cultivo (peso del fruto)			
<b>ORYZA v3</b>	Arroz ( <i>Oryza sativa</i> )	Tiempo de panícula, floración y madurez fisiológica. Biomasa.	En trasplante, inicio de la panícula, floración, madurez fisiológica y cosecha.	Simulación de crecimiento y rendimiento del cultivo sometido a estrés salino.	(Radanielson et al., 2018)
<b>Hydrus-1D</b>	Tomate ( <i>Solanum lycopersicum</i> )	Altura de la planta. Profundidad de enraizamiento Índice de área foliar	Cada 10 días desde la siembra y hasta la cosecha.	Simulación de la dinámica del agua y la sal en un suelo destinado al cultivo, y estimar los requerimientos de agua del cultivo.	(Kanzari et al., 2020)
<b>Hidroquímicos</b>	Raíces de albahaca ( <i>Ocimum basilicum</i> )	Ninguna, midieron: Transpiración relativa del suelo.	No aplica	Determinación <i>in situ</i> del contenido de agua del suelo y la programación del riego.	(Babazadeh et al., 2017)

		Pesos secos de hojas, tallos y flores (brotes)		
<b>SUCROS97</b>	<i>Lilium (L. auratum × speciosum 'Sorbonne')</i>	Longitud de las hojas Área foliar e índice de área foliar Capacidad fotosintética de la hoja o tasa de fotosíntesis bruta a una intensidad de luz de saturación	En los días 3, 5, 7 y 9 después de inducido el estrés hídrico	Mejorar la predicción de la producción de biomasa bajo sequía integrando parámetros de fluorescencia de clorofila. (Yu et al., 2021)
<b>SALTMED</b>	Tomate ( <i>Solanum lycopersicum</i> L.)	Fluorescencia de la clorofila Altura máxima Profundidad de enraizamiento Índice de área foliar Rendimiento	Temporadas 2017 y 2018, no especificado	Simulación y predicción del contenido de humedad del suelo, distribución de la salinidad, y el rendimiento final del cultivo (Alkasha y Al-Omran; 2019)

### **III. Fundamento teórico**

#### **3.1. Estrés vegetal**

##### **3.1.1. Definición de estrés**

En fisiología vegetal, el término “estrés” se adaptó de la física, que lo define como la interacción que se da entre una fuerza y la resistencia de un cuerpo para contrarrestarla (Wardlaw, 1972). La definición fisiológica de esta palabra es “respuesta a diferentes situaciones” (De Oliveira et al., 2013), que, aplicada a las plantas, hace referencia a un estado en el que el vegetal experimenta un cambio que exige una respuesta (Mosa et al., 2017). El estrés en plantas se ha definido como cualquier condición externa que afecta de manera negativa el metabolismo, desarrollo, crecimiento y productividad (Hasan et al., 2018; Verma et al., 2013). También, se define como un factor externo a la planta, de carácter abiótico o biótico, que limita su tasa fotosintética y disminuye la producción de biomasa (De Oliveira et al., 2013).

##### **3.1.2. Factores de estrés en las plantas**

El efecto del cambio climático sobre la agricultura ha provocado una especial atención en la interacción entre los cultivos y el medio ambiente (Rao et al., 2016). A lo largo de todo su ciclo vital, las plantas enfrentan diversos factores de estrés biótico y abiótico, como el ataque de organismos patógenos como hongos, bacterias, nematodos y herbívoros, así como la baja disponibilidad de agua, exceso de agua, temperaturas extremas, salinidad, deficiencia de minerales y toxicidad (Khan et al., 2014; Gull et al., 2019), afectando su crecimiento, desarrollo y productividad (Ramegowda et al., 2020).

El estrés biótico causa reducción en el desarrollo de brotes, aumento de la susceptibilidad a enfermedades, acumulación de especies reactivas de oxígeno (ROS), inhibición del crecimiento de las raíces, y reducción de la biomasa, entre otras. Por su parte, el estrés abiótico provoca la reducción de la tasa fotosintética y de la transpiración, acumulación de ROS, reducción de la fijación de CO<sub>2</sub>, pérdida

de la integridad de la membrana celular, senescencia del área foliar, incremento de la concentración de metales, desbalance hormonal y reducción de la fijación de N<sub>2</sub>, entre otras (Kumar & Verma, 2018).

Debido a los factores de estrés ambientales mencionados previamente, las plantas activan diferentes mecanismos de defensa molecular, bioquímica, fisiológica y morfológica, para contrarrestar los efectos que ejercen sobre ellas, lo que puede dar como resultado un nuevo estado fisiológico y el restablecimiento de la homeostasis, provocando alteraciones en el metabolismo, el crecimiento y el desarrollo de las plantas, causando, en algunos casos, su muerte (Jogaiah et al., 2013). Estas respuestas al estrés dependen del tejido u órgano de la planta afectada, así como de su intensidad y duración (Khan et al., 2014). Además, el efecto de estos factores en las plantas y su grado de resistencia a ellos dependerán de su capacidad para percibirlos y activar respuestas adecuadas (Llorens et al., 2020).

### **3.1.3. Estrés abiótico en plantas**

El estrés abiótico se define como aquellos efectos causados por diversos factores ambientales que incluyen la sequía, temperaturas extremas (calor, frío, heladas), salinidad, toxicidad química y radiación ultravioleta (UV). Estos efectos provocan una serie de cambios bioquímicos, moleculares, fisiológicos y morfológicos que afectan el crecimiento y desarrollo de las plantas, reduciendo su rendimiento (Pathak et al., 2014; Wani & Kumar Sah, 2014; Madani et al., 2018), lo cual representa una grave amenaza para la agricultura y son la principal causa de pérdida de productos hortícolas en el mundo (Madani et al., 2018).

Según Wang et al., (2013), se estiman pérdidas de rendimientos de 65.8% en cultivos de maíz, 82.1% para trigo, 69.3% para soya y 54.1% para papa; en el caso del chile, se presentan pérdidas del 30 al 70% (Reddy et al., 2016).

Los principales tipos de estrés ambientales son la sequía y la salinidad; estos provocan que las plantas sufran estreses secundarios como osmótico y oxidativo (para ambos tipos de estrés) y estrés iónico (sometidas a estrés por salinidad),

causando alteraciones en procesos fisiológicos, bioquímicos y moleculares (Kaushal & Wani, 2016).

De estos tipos de estrés abiótico, la sequía es el más severo; ocasiona daño en la integridad de la membrana de organelos celulares vitales para la planta como son los cloroplastos, lo que conlleva la reducción de la fotosíntesis y a la creación de un desbalance osmoregulatorio, limitando significativamente el rendimiento de los cultivos (Pathak et al., 2014; Sanghera et al., 2011).

La sequía afecta al 45% de las tierras agrícolas en el mundo y el 19.5% de las tierras agrícolas irrigadas son consideradas salinas (Abdelraheem et al., 2019; dos Reis et al., 2012). Se estima que la sequía y la salinidad provoquen una grave salinización en más del 50% de las tierras cultivables en todo el mundo (Rao et al., 2016).

Por su parte, las plantas cuentan con diversos mecanismos para responder al estrés abiótico, los cuales dependen del tejido u órgano afectado por el estrés, la intensidad y duración de este. Algunas plantas han desarrollado mecanismos que les permiten reducir el impacto del estrés abiótico, mediante la evitación o la tolerancia, estableciendo una nueva homeostasis metabólica, lo que les permite seguir desarrollándose sin sufrir daños inducidos por el estrés (Khan et al., 2014).

Una de las principales respuestas de las plantas al estrés abiótico, principalmente a la alta salinidad, es la alteración de la relación  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  en el citoplasma de la célula vegetal. La síntesis de fitohormonas como el ácido abscísico es otra manera en que las plantas logran la tolerancia a factores de estrés ambiental como la sequía, bajas temperaturas, alta salinidad del suelo o lesiones mecánicas, ayudando a su adaptación (características estructurales o funcionales heredables que mejoran su capacidad de desarrollo en ambientes estresantes) y aclimatación (cambios fisiológicos no heredables durante su ciclo vital) al estrés (Khan et al., 2014; Sah et al., 2016).

Como resultado de la respuesta de las plantas a condiciones de estrés abiótico, se inducen diversas cascadas de señalización, las cuales provocan la acumulación

de fitohormonas, producción de enzimas como las quinasas, activación de canales iónicos y producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) (Khan et al., 2014). Todas estas señales permiten la inducción de la expresión de genes específicos que conducen al ensamblaje de la reacción de defensa de la planta, según se presenta en la Figura 1.



Figura 1. Respuesta de las plantas a estrés abiótico (Adaptada de Khan et al., 2014).

Las respuestas fisiológicas de las plantas al estrés abiótico tienen en común cambios en el estado bioenergético de la planta, lo que implica la reducción de la producción de energía y/o el aumento en su demanda, de lo cual dependen las plantas para llevar a fotosíntesis (Duque et al., 2013). Lawlor (2002), menciona que el efecto del estrés abiótico sobre la fotosíntesis puede ser perceptible en las reacciones fotoquímicas de la membrana tilacoide, en el ciclo de reducción del carbono en el estroma, empleo de carbohidratos en el citosol, y sobre el suministro de CO<sub>2</sub> al cloroplasto dependiente de estomas y conductancia del cloroplasto.

### 3.2. Estrés por sequía

El estrés por sequía tiene un efecto negativo sobre diversos procesos fisiológicos de las plantas, especialmente sobre la fotosíntesis, reduciéndo su crecimiento y productividad (Osakabe et al., 2014; Pathak et al., 2014). Durante las etapas de crecimiento vegetativo, un ambiente seco reduce el tamaño de las hojas, la extensión del tallo y la proliferación de la raíz, afectando la relación agua-planta y

disminuyendo la eficiencia del uso del agua (Farooq et al., 2009). También, puede provocar en las plantas la aparición de estrés oxidativo, el cual ocurre cuando hay un grave desequilibrio entre las especies reactivas de oxígeno (ROS) y la defensa antioxidant (Ahmad et al., 2010).

Las plantas responden al estrés por sequía a través de diferentes mecanismos de defensa a nivel morfológico, fisiológico, bioquímico y genético, que incluyen disminución del números de hojas, área foliar, biomasa y frutos; alteraciones en la actividad estomática, fotosíntesis y transpiración; así como la acumulación de prolina, el aumento en el contenido de metabolitos secundarios y el incremento en la actividad de enzimas antioxidantes (Oguz et al., 2022; Salehi-Lisar & Bakhshayeshan-Agdam, 2016; Yang et al., 2021). Debido a esto, la detección y monitoreo del estrés por sequía es fundamental para prevenir pérdidas de rendimiento y mejorar la productividad de un cultivo (Dao et al., 2021).

Se conoce que durante condiciones de estrés, las plantas acumulan osmolitos como glicina betaína, azúcares (manitol, sorbitol, trehalosa), glicerol, poliaminas y L-prolina, etc. (Anjum et al., 2017; Sharma et al., 2019). Entre ellos, la prolina es el osmolito más importante bajo condiciones de estrés por sequía (Sharma et al., 2019). La prolina es un aminoácido que juega un papel importante ante el estrés por sequía, actuando como osmoprotector, quelante de metales y molécula de defensa antioxidante eliminando especies reactivas de oxígeno (Shamsul Hayat et al., 2012). La acumulación de este metabolito es una respuesta bioquímica al estrés osmótico ocasionado por la sequía y otros factores abióticos (Meena et al., 2019). Se ha observado aumento en los niveles de prolina en plantas sometidas a diversas condiciones de estrés.

Por su parte, los capsaicinoides son metabolitos secundarios a los que se les atribuye la pungencia en los frutos de chile y que además tiene diversos beneficios para la salud y aplicaciones industriales (Naves et al., 2019). Sung et al. (2005), estudiaron la biosíntesis de capsaicina en frutos de pimiento picante bajo condiciones de estrés hídrico por sequía, encontrando una mayor concentración en frutos de la planta en condiciones más severas de estrés. Mani (2014) también

encontró que el contenido de capsaicina en chiles tunecinos aumenta cuando se presentan condiciones de sequía. En cuanto a los fenoles y flavonoides, estos son metabolitos secundarios que se acumulan en las plantas con estrés por sequía para contrarrestar la presencia de especies reactivas de oxígeno, debido a sus efectos antioxidantes (Ricardez-Miranda et al., 2021). Con relación al CaPIP1-1, el cual es un gen codificador de acuaporinas (proteínas responsables del transporte transmembranal de agua) que juega un papel importante en la modulación del agua, el crecimiento y la mejora de la tolerancia al estrés de plantas como las de chile (Yin et al., 2015).

Las plantas han desarrollado diversas estrategias para protegerse del daño generado por ROS debido a la sequía, entre las que se encuentran la síntesis de antioxidantes (ácido ascórbico, glutatión y  $\alpha$ -tocoferol) y de enzimas (peroxidases y superóxido dismutasas). Las sustancias antioxidantes reducen las concentraciones de electrones peligrosos, mientras que las enzimas ayudan en la eliminación de radicales libres (Ahmad et al., 2010; Kosová et al., 2011). La tolerancia de las plantas a la sequía depende de su capacidad para desarrollar adaptaciones fisiológicas, bioquímicas y morfológicas que les permitan hacer un uso eficiente del agua disponible (Mariani y Ferrante, 2017).

Según Ullah et al. (2016), la tolerancia de una planta a este estrés está relacionada con el mantenimiento del agua en las plantas, que puede darse mediante la reducción de la pérdida de humedad al disminuir la transpiración o mejorando la capacidad de la raíz para absorber agua disponible en el suelo a través del ajuste osmótico; además, la regulación adecuada de nutrientes puede ayudar a la planta a mantener su estado de agua.

Por su parte, la fisiología de una planta está regulada por la disponibilidad de agua del suelo y de las condiciones del ambiente. La disminución de agua en el suelo induce en la planta la regulación de la tasa respiratoria a través de la reducción de la conductancia estomática, con la finalidad de equilibrar la cantidad de absorción de agua y con ello mantener el equilibrio hídrico (misma cantidad de agua absorbida y transpirada) (Mariani y Ferrante, 2017). Sin embargo, se reporta que a pesar de

que algunas plantas son capaces de desarrollar mecanismos para contrarrestar los efectos de este tipo de estrés, adaptando su esquema de conservación de agua para reducir la perdida de esta, siempre se observa una reducción de la fotosíntesis (Lisar et al., 2012)

La baja disponibilidad de agua induce varios cambios fisiológicos como el área reducida de las hojas y aumento del tamaño de las raíces, esto último con la finalidad de poder explorar una amplia área de suelo para encontrar agua, y cambios fisiológicos dada la necesidad de alcanzar la maduración vegetativa. También induce cambios metabólicos, al invertir su energía para modificar su morfología o en la producción de osmolitos (Mariani & Ferrante, 2017). Los osmolitos son solutos de bajo peso molecular utilizados por las células de diversos organismos y tejidos sometidos a escasez hídrica para mantener el volumen celular; en las plantas son de considerable importancia para mantener el funcionamiento adecuado de las células vegetales. Ejemplos de estos solutos son los polioles, metabolitos, ácidos orgánicos, glicina betaína y prolina (Yancey, 2005).

### **3.3. Estrés por salinidad**

La alta salinidad en los suelos representa un grave problema debido a que disminuye el crecimiento y rendimiento de los cultivos. Se estima que cerca del 20% de las áreas cultivadas y el 33% de las tierras agrícolas de riego en todo el mundo (tierras que cuentan con sistemas de riego para cuando este sea necesario) están afectadas por alta salinidad, por lo que la producción vegetal se ve amenazada por el aumento de la salinidad de los suelos (Foolad, 2004; Rao et al., 2016).

Según su origen, la salinización de los suelos se divide en primaria y secundaria. La salinización primaria está relacionada con la acumulación natural de sales (por ejemplo, acumulación de sal marina traída por el viento o el agua), mientras que la salinización secundaria del suelo es ocasionada por la actividad humana (por ejemplo, uso de riego en la agricultura). La salinidad del suelo puede provocar la acumulación excesiva de iones solubles en agua como el  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ , entre otros (Isayenkov, 2012).

Un ejemplo de esto se presenta en zonas costeras, donde la agricultura se ve afectada debido a que utilizan agua para el riego que es de baja calidad y alta en sales, producto de la contaminación de aguas subterráneas y a la intrusión de agua salina durante desastres naturales; también en las zonas del interior, se riega generalmente con aguas de pozo, mismas que tienen alto contenido salino (Rao et al., 2016).

### **3.4. Medición del estrés en plantas**

Previamente se mencionó que cuando las plantas están sometidas a condiciones de estrés, sea biótico o abiótico, experimentan una serie de cambios morfológicos, estructurales y bioquímicos. Además, a nivel molecular, pueden experimentar cambios en los niveles de expresión génica y proteica, así como en los niveles de metabolitos. Lo anterior se da principalmente para contrarrestar las condiciones de estrés y tolerar el exceso o ausencia de nutrientes (Duque et al., 2013; Mosa et al., 2017).

En este sentido, según Duque et al. (2013), se deben tener medidas precisas de las características alteradas en las plantas, así como los niveles de expresión, para poder comparar entre las condiciones normales y la respuesta al estrés. Esto con la finalidad de comprender los efectos que provoca el estrés en estudio y los mecanismos de tolerancia de las plantas ante los factores estresantes.

Las mediciones que se realizan para determinar los efectos del estrés de la planta suelen clasificarse en tres tipos:

1. Mediciones de la viabilidad de la planta (crecimiento, producción y reproducción), tanto en condiciones de estrés como en condiciones normales (Mosa et al., 2017).
2. Mediciones de procesos biológicos específicos, como la fotosíntesis o la señalización celular en respuesta al factor de estrés (Bunce, 2009).
3. Mediciones moleculares, como niveles de expresión génica y proteica (Singh y Jwa, 2013; Wang et al., 2013), cambios en la fosforilación de proteínas (Vialaret et al., 2014) o alteraciones metabólicas (Saruyama et al., 2013).

En la producción agrícola se requiere de tecnologías para detectar rápidamente las características fisiológicas, bioquímicas y morfológicas de la planta que cambian cuando se encuentra sometida a algún factor de estrés (Fiorani y Schurr, 2013). En la actualidad, existen varias las tecnologías de detección utilizadas para determinar el tipo de estrés, su nivel de incidencia y/o los cambios fisiológicos. Entre ellas se encuentran:

- Espectroscopía de reflectancia (Campbell et al., 2007),
- Espectroscopía de fluorescencia de la clorofila (Kalaji et al., 2011),
- Termografía infrarroja (Zia et al., 2013),
- Espectroscopía de tera-hercios en el dominio del tiempo (Born et al., 2014),
- Imagen hiperespectral (Behmann et al., 2014)
- Espectroscopía Raman (Altangerel et al., 2017).

Diversas investigaciones se han realizado en torno a la medición de las respuestas de las plantas ante condiciones de estrés abióticos. Campbell et al. (2007) utilizaron reflectancia espectral de alta resolución para detectar cambios en la vegetación asociados con factores ambientales comunes ( $N_2$ ,  $CO_2$ ,  $O_3$  y UV) que afectan el crecimiento y la productividad de plantas de maíz, soya y maple, haciendo un barrido de longitudes de onda para evaluar la respuesta al estrés.

Kalaji et al. (2011) estudiaron la actividad fotosintética de cebada siria (*Hordeum vulgare* L.), cultivada bajo condiciones de estrés por baja y alta temperatura, analizando las señales de fluorescencia de clorofila, estas señales fueron medidas los días 1 y 7 después de la inducción del estrés, usando el equipo fotosintético Plant Efficiency Analyzer (Handy-PEA); sin embargo, debido a que no vieron cambios en la eficiencia fotosintética después de la aplicación del estrés, concluyeron que no recomiendan este aparato para la detección temprana de este tipo de estrés.

Zia et al. (2013) utilizaron la técnica de imagen térmica infrarroja como herramienta rápida para determinar la tolerancia al estrés hídrico en genotipos de maíz, monitoreando la temperatura de las hojas en diferentes etapas fenológicas (1,

21, 40, 41, 55, 56, 68, 69, 77, 78, 89, 101, 102, 112, 123 y 133 días después de la siembra).

Born et al. (2014) monitorearon los cambios en el estado del agua en semillas de abeto plateado (*Abies alba*) utilizando espectroscopía de tera-hercios en el dominio del tiempo no destructiva (THz-TDS), estableciendo grupos de plantas con niveles bien definidos de estrés hídrico que no pudieron detectarse visualmente.

Behmann et al. (2014) presentaron un nuevo método que permite la descripción y detección del estrés por sequía en plantas superiores a partir de series de imágenes hiperespectrales en plantas de cebada durante los primeros 20 y 30 días de la inducción del estrés.

Fernandez-Jaramillo et al. (2015) desarrollaron un sistema de medición de fluorescencia de clorofila basado en arreglos de compuertas programadas en campo (FPGA) con la finalidad de proporcionar a los investigadores nuevas formas de obtener información fisiológica de las plantas cuando están sometidas a factores de estrés.

Maimaitiyiming et al. (2017) estudiaron la detección temprana de respuestas fisiológicas de vides a diferentes niveles de estrés hídrico mediante espectroscopía de reflectancia. Determinaron el estado fisiológico de las hojas mediante un sistema portátil de fotosíntesis LI-6400XT acoplado a un fluorímetro de pulsos de amplitud moderada, midiendo las variables de intercambio de gases y de fluorescencia (conductancia estomática, tasa de asimilación de CO<sub>2</sub> fotosintético, fluorescencia de clorofila y tasa de transporte de electrones); además, realizaron la medición de la reflectancia mediante un espectroradiómetro portátil. Finalmente, mencionan que sus hallazgos son una herramienta operativa para predecir indicadores de estrés temprano de la planta.

Altangerel et al. (2017) sometieron plantas de Lima coleus (*Plectranthus scutellarioides*) a estrés por alta salinidad, sequía, exposición al frío y saturación de luz y observaron los cambios en la concentración de pigmentos reactivos de eliminación de oxígeno, dentro de las primeras 48 horas de indicación de cada estrés, utilizando la técnica espectroscópica Raman.

Por otro lado, como se mencionó, Wang et al. (2018) evaluaron la reducción de la fotosíntesis en hojas de manzano sometidas a condiciones de estrés por sequía, esto a través de la medición de parámetros de intercambio de gases fotosintéticos (tasa fotosintética, concentración intracelular de CO<sub>2</sub>, tasa de transpiración y conductancia estomática) mediante el empleo de un sistema portátil de fotosíntesis LI-6400T. También, realizaron la medición de la fluorescencia de la clorofila usando un fluorímetro de pulsos de amplitud moderada y de inducción de fluorescencia de la clorofila en fase lenta. Por otro lado, determinaron el contenido de ROS, midiendo la tasa de generación de peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) y oxígeno molecular (O<sub>2</sub>) mediante espectrofotometría. Otros de los parámetros que midieron fueron las actividades enzimáticas mediante espectrofotometría de las enzimas catalasa (A<sub>240</sub> nm), superóxido dismutasa (A<sub>560</sub> nm), peroxidasa (A<sub>470</sub> nm) y ascorbato peroxidasa, previamente extraídas de la planta (A<sub>2740</sub> nm). Finalmente, realizaron la detección de la proteína D1 del fotosistema II (PSII) mediante análisis Western Blot.

Ihuoma y Madramootoo (2019) estudiaron la posibilidad de utilizar los índices de vegetación espectral para la detección del estrés hídrico con la finalidad de optimizar la eficiencia del uso del agua de riego en cultivos de tomates bajo condiciones de invernadero. Compararon varios índices de vegetación espetrales (VIs), definidos como proporciones o combinaciones lineales de reflectancias en unas pocas longitudes de onda (Jay et al., 2017), e índices de reflectancia fotoquímica (PRI) y determinaron la relación entre los VIs y el estrés hídrico de las plantas de tomate, concluyendo que no es suficiente un solo índice para la estimación precisa del estado del agua de la planta, por lo que recomendaron combinar índices hiperespectrales térmicos y de banda estrecha.

Por otra parte, Asaari et al. (2019) evaluaron la detección temprana de las respuestas de plantas de maíz sometidas a diferentes condiciones de estrés por sequía y estudiaron su nivel de recuperación, a partir de la reflectancia espectral, conocida como imagen hiperespectral de corto alcance (HSI), mostrando que es una técnica prometedora y no destructiva para detectar respuestas de estrés por sequía en plantas.

En cuanto a la medición de factores de estrés biótico, actualmente se utilizan diversos métodos en el sector agrícola para detectar patógenos de plantas, que básicamente son los mismos que se emplean en estrés de tipo abiótico:

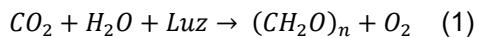
- Métodos moleculares, utilizados para la detección e identificación de enfermedades de las plantas se encuentran la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y reacción cuantitativa en cadena de la polimerasa (qPCR), ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA), hibridación fluorescente in situ (FISH), inmunofluorescencia (IFI) y citometría de flujo (FCM); estos métodos están basados en la detección directa del patógeno o de las moléculas asociadas (ADN o toxinas).
- Métodos de imagen, estos permiten el diagnóstico indirecto de enfermedades de las plantas mediante la detección de cambios de color, textura o temperatura; entre ellos están la termografía, fluorescencia e imágenes hiperespectrales.
- Métodos espectroscópicos, se encuentran la espectroscopía de transmisión y reflectancia visible (VIS) e infrarrojo cercano (NIR), espectroscopía por infrarrojo (IR), espectroscopía Raman (RS) (Farber et al., 2019).

### **3.5. Variables fisiológicas asociadas a condiciones de sequía y salinidad**

#### **3.5.1. Tasa fotosintética**

La fotosíntesis (del griego *photos*: luz y *synthesis*: construcción de un todo) es un proceso mediante el cual la luz solar se convierte en energía química, la cual es utilizada para sintetizar compuestos orgánicos en la planta a partir de compuestos inorgánicos adquiridos fuera de la planta (Keller, 2020). Este proceso permite no sólo el mantenimiento, crecimiento, desarrollo y reproducción de las plantas, sino también sus respuestas de adaptación a las condiciones ambientales (Yahia et al., 2019). La fotosíntesis es considerada la forma más importante de obtención de energía para todas las plantas (Keller, 2020).

Durante el proceso de fotosíntesis se lleva a cabo una conversión de la luz solar, el dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) atmosférico y el agua en glucosa y oxígeno. El proceso general de la fotosíntesis se representa con la Ecuación 1.



La luz es la encargada de inducir un conjunto de reacciones redox para la transformación de la radiación solar en energía química. El agua actúa como un agente reductor al ser fuente de electrones; durante el proceso, dos moléculas de agua se oxidan mediante reacciones de separación de cargas, para liberar iones de hidrógeno, los cuales son utilizados en la cadena transportadora de electrones, bomba de protones asociada y ATP sintasa, y dan como resultado la producción de ATP para la formación adicional de carbohidratos a partir de  $\text{CO}_2$  y agua. Finalmente, se libera  $\text{O}_2$  a la atmósfera como un producto de desecho de esta reacción (Yahia et al., 2019).

Básicamente, la fotosíntesis consta de dos reacciones muy diferentes. La primera reacción es conocida como “reacción dependiente de la luz”, donde la energía de la luz es usada para la oxidación fotoquímica del agua, produciéndose la coenzima reducida NADPH y liberando  $\text{O}_2$ . Además, esta energía es utilizada para obtener ATP a partir de ADP, en un proceso llamado “fotofosforilación”. En esta reacción, la clorofila es la responsable de la absorción de la luz (Yahia et al., 2019).

La segunda reacción es llamada “reacción independiente de la luz”, la cual no necesita la presencia de luz, pero puede ocurrir también bajo su presencia. Durante esta reacción, el NADPH y el ATP producido en la primera reacción son utilizados para fijar  $\text{CO}_2$  en carbohidratos, en un proceso conocido como el ciclo de Calvin, mediado por la acción de la enzima RuBisCo (ribulosa bifsosfato carboxilasa). Estas reacciones ocurren cuando la luz solar ingresa por los estomas que se abren, permitiendo la entrada de  $\text{CO}_2$  a las células fotosintéticas (Yahia et al., 2019).

Por otro lado, la tasa fotosintética de las plantas es un parámetro de gran importancia a nivel fisiológico, debido a que caracteriza la capacidad fotosintética del aparato fotosintético. Además, es un factor determinante de la eficiencia del uso de la luz, la producción de biomasa y el rendimiento de los cultivos (Sudhakar et al.,

2016). Se ha utilizado con precisión para describir la fotosíntesis durante el crecimiento y la producción de las plantas (Zhou et al., 2017).

La fotosíntesis puede determinarse mediante diferentes métodos, como la captación de CO<sub>2</sub> (cuánto absorben las plantas), liberación de O<sub>2</sub> (cantidad de O<sub>2</sub> producida durante la fotosíntesis), contenido de materia seca, producción de carbohidratos (forma indirecta) y fluorescencia de la clorofila. El intercambio de gases (CO<sub>2</sub>-O<sub>2</sub>) se usa con mayor frecuencia para medir la fotosíntesis, y existen algunas técnicas como la medición de CO<sub>2</sub> mediante luz infrarroja y la medición de O<sub>2</sub> que requiere sensores electroquímicos (Trimble, 2019).

### **3.5.2. Tasa de transpiración**

La transpiración es la evaporación o pérdida de agua del tejido vegetal. Es un proceso impulsado por la diferencia de vapor de agua entre el espacio intercelular de la planta al aire circundante (Kubota, 2020), el cual implica la evaporación del agua de las superficies de las células hacia la cavidad estomática y la difusión del agua del tejido u órgano de la planta hacia el aire (Díaz-Pérez, 2018).

En las plantas, la transpiración es beneficiosa, debido a que reduce la temperatura de las hojas y produce un gradiente de potencial hídrico que provoca el movimiento del agua a través de las plantas. Por lo tanto, controla la tasa de absorción de agua y el ascenso de nutrientes del suelo (Kramer & Boyer, 1995; Pallardy, 2007).

La tasa de transpiración hace referencia a la cantidad de agua que pierden las plantas durante un tiempo determinado. Las plantas regulan la tasa de transpiración mediante la apertura y cierre de sus estomas (Siyavula, n.d.).

Por otro lado, la tasa de transpiración se ve afectada por varios factores, como la concentración de vapor de agua en el aire circundante, la temperatura de la hoja, la capa límite y la resistencia estomática (Kubota, 2020). La influencia de estos factores puede inducir déficits de agua, inhibición del crecimiento y también causa lesiones y muerte de plantas por deshidratación (Pallardy, 2007).

El proceso de difusión del agua en la transpiración se describe utilizando la Ecuación (2):

$$E = \frac{V_{in} - V_{air}}{R_s + R_b} \quad (2)$$

donde E es la tasa de transpiración de la hoja ( $\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ) a través del sistema que tiene concentraciones de vapor de agua en la cavidad estomática ( $V_{in}$ ,  $\text{mol.m}^{-3}$ ) y aire circundante ( $V_{air}$ ,  $\text{mol.m}^{-3}$ ), además de resistencias estomáticas y de capa límite ( $R_s$  y  $R_b$ ,  $\text{s m}^{-1}$ ).

### 3.5.3. Conductancia estomática

Los estomas son estructuras epidérmicas especializadas, que funcionan como válvulas moleculares, que actúan en el intercambio de gases, principalmente  $\text{CO}_2$  y  $\text{O}_2$ , necesario para una fotosíntesis óptima y que restringe la pérdida de agua al modular el nivel de transpiración (Daszkowska-golec & Szarejko, 2013). Son poros diminutos ubicados en la superficie de las hojas, los cuales proporcionan vías directas entre el interior de la hoja y el aire, siendo la interfaz activa entre las plantas y su entorno atmosférico (Landsberg & Sands, 2011).

La conductancia estomática es una medida del grado de apertura estomática y se puede utilizar como indicador del estado hídrico de la planta (Giménez et al., 2013). Mide la velocidad de difusión del  $\text{CO}_2$  en la hoja o de las moléculas de vapor de agua fuera de las cavidades detrás de los estomas. Es una función del número, tamaño y grado de apertura de los estomas en las capas superficiales de las hojas. La conductancia estomática es un proceso clave que limita la fotosíntesis y la transpiración (Landsberg & Sands, 2011).

Como respuesta estomática a condiciones adecuadas de irrigación y cuando la demanda de evaporación atmosférica es baja, los estomas se abren completamente durante períodos de luz diurna, lo que maximiza la asimilación de  $\text{CO}_2$  y asegura tasas óptimas de fotosíntesis. Por el contrario, ante déficit hídrico y disminución del potencial hídrico de la planta, se produce el cierre parcial de los estomas para reducir la pérdida de agua de la planta, por lo que se reduce la tasa fotosintética.

Este se puede medir con porómetros de difusión, tanto dinámicos como de estado estacionario (Giménez et al., 2013).

### **3.5.4. Déficit de presión de vapor**

El déficit de presión de vapor (VPD) es la diferencia entre la capacidad de retención de vapor de agua atmosférico en saturación y la cantidad real de vapor de agua en el aire a una temperatura determinada (Li et al., 2020). Es un indicador importante del aumento de la demanda atmosférica de humedad debido al aumento de la temperatura y desecación atmosférica (Behrang et al., 2016; Ficklin & Novick, 2017). El VPD determina la transpiración de las plantas y su productividad, debido a que puede afectar la humedad del suelo y la dinámica de la precipitación a través de la evaporación (Ficklin & Novick, 2017).

## **3.6. *Capsicum annuum L.***

El chile (*Capsicum* spp.) es una hortaliza y especia perteneciente a la familia *Solanaceae*, ampliamente consumida en el mundo, conocido comúnmente como chile, pimiento picante, pimiento dulce, pimiento verde y pimentón (Madhavi et al., 2016). Se reconocen varias especies que se caracterizan por ser picantes: *Capsicum annuum*, *Capsicum frutescens* y *Capsicum chinense* (Giuffrida et al., 2013). La especie *Capsicum annuum* es la más importante a nivel mundial, debido a la gran extensión de su cultivo y al valor económico que representa su producción (SNICS, 2017).

*Capsicum annuum* es un cultivo comercial de gran importancia económica para diferentes áreas, entre las que se encuentran la horticultura, agricultura, farmacéutica y medicinal, siendo China, México y Turquía los principales productores mundiales (Rodríguez-Calzada et al., 2019).

Se considera el segundo vegetal más consumido del mundo, rico en vitamina C, compuestos fenólicos, flavonoides, vitamina E (tocoferoles), provitamina A (carotenoides), capsaicinoides y calcio (Madhavi et al., 2016). Este vegetal se utiliza tradicionalmente como condimento debido a su sabor, color y pungencia; sin embargo, debido a su composición química, también se emplea para la conservación de productos industriales, como aditivo por su actividad

antimicrobiana y antioxidante, y en la formulación de productos farmacéuticos antiinflamatorios y analgésicos (Baenas et al., 2019).

*Capsicum annuum* es una de las hortalizas más cultivadas en el mundo, con un área cosechada de 1,990,423 hectáreas y una producción de 36,771,482 toneladas (FAOSTAT, 2019). La mayor diversidad de esta especie de chile se encuentra en México (SNICS, 2017), siendo la de mayor importancia para el país. Se han estudiado diversos tipos morfológicos de gran aceptación para el país y con múltiples usos (por ejemplo, culinario), como el chile guajillo, ancho, serrano, jalapeño, etc. (Aguilar-Rincón et al., 2010).

Según la Secretaría de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) en 2018, en México se cosecharon 156,798.97 hectáreas de chile en todas sus variedades, con una producción de 3,379,289.15 toneladas, lo que representa un valor monetario de alrededor de 30,063 millones de pesos.

*C. annuum* es un vegetal de raíces poco profundas, de baja capacidad de regeneración y requisitos hídricos sensibles, esto último debido a que durante su etapa de crecimiento tiene un mayor consumo de agua debido a que se presenta durante la época de verano (Li et al., 2017). Los rendimientos en su producción se ven severamente afectados por factores de estrés bióticos y abióticos. Las etapas de floración y fructificación son sensibles al estrés abiótico, siendo la baja disponibilidad de agua y la alta temperatura los principales factores abióticos que limitan la productividad de este cultivo (Rasool et al., 2019).

En los Cuadros 4 y 5 se presentan los requerimientos para el crecimiento del cultivo de chile.

Cuadro 4. Requerimientos de temperatura del chile (Montes, 2010).

Etapas de cultivo	Temperatura (°C)		
	Óptima	Mínima	Máxima
Germinación	20-25	13	40
Crecimiento vegetativo	20-25 (día)		
	16-18 (noche)	15	32
Floración y fructificación	26-28 (día)		
	18-20 (noche)	18	35

Cuadro 5. Requerimientos para cultivo de chile (Guevara et al., 2018; Idrees et al., 2020).

Variable	Requerimiento
Agua	Establecimiento del cultivo, floración y formación del fruto (8000 m <sup>3</sup> /h).
Humedad relativa	Desarrollo vegetativo (50-70%); crecimiento vegetativo (60%); floración (70%).
Suelos	Francos medios, profundos, sueltos, ricos en materia orgánica y con buen drenaje.
pH	5.5-6.8
Luminosidad	Iluminación intensa (32.3-86.1 klux).

### 3.6.1. Efectos de la sequía sobre *Capsicum annuum L.*

*Capsicum annuum* es sensible a condiciones de sequía, y sus efectos dependen de la severidad del estrés y la etapa fisiológica del cultivo (Kang et al., 2020; Sudhakar et al., 2016). La sequía es el estrés de tipo abiótico que tiene una mayor incidencia sobre el rendimiento del cultivo de chile; el cual ocurre durante el crecimiento de la planta, puede generar pérdidas de rendimiento desde el 30 hasta el 70% (Madhavi et al., 2016).

El estrés por sequía afecta negativamente características morfológicas en el cultivo de chile, como número de hojas y frutos, área foliar total, altura de la planta, diámetro del tallo y materia seca total acumulada (Macias-Bobadilla et al., 2020; Mardani, Tabatabaei, Pessarakli, et al., 2017; Widuri et al., 2020). Los rasgos fisiológicos también se ven afectados negativamente por el estrés por sequía en las

plantas de chile, como la conductancia estomática, la transpiración, la fotosíntesis y la disminución del contenido relativo de agua (Lakshmi et al., 2019; Widuri et al., 2020).

Además, el estrés por sequía aumentó la concentración de osmolitos como prolina (Pro), y compuestos bioactivos como capsaicinoides, polifenoles y flavonoides (Ricardez-Miranda et al., 2021; Wassie et al., 2023). Además, se incrementa la actividad de enzimas antioxidantes como la fenilalanina amonio liasa (PAL) y peroxidasa (POD) (Jaswanthi et al., 2019).

Se conoce que durante condiciones de estrés, las plantas acumulan osmolitos como la glicina betaína, azúcares (manitol, sorbitol, trehalosa), glicerol poliaminas, L-prolina, etc. (Anjum et al., 2017; Sharma et al., 2019). La prolina es el osmolito más importante bajo condiciones de estrés por sequía (Sharma et al., 2019). La prolina es un aminoácido que juega un papel importante ante el estrés por sequía, actuando como osmoprotector, quelante de metales, y molécula de defensa antioxidante eliminando especies reactivas de oxígeno (Shamsul Hayat et al., 2012). La acumulación de este metabolito es una respuesta fisiológica al estrés osmótico ocasionado por la sequía y otros factores abióticos (Meena et al., 2019).

Se ha observado aumento en los niveles de prolina en plantas sometidas a diversas condiciones de estrés. Por su parte, los capsaicinoides son metabolitos secundarios a los que se les atribuye la pungencia en los frutos de chile y que además tiene diversos beneficios para la salud y aplicaciones industriales (Naves et al., 2019). Sung et al. (2005) estudiaron la biosíntesis de capsaicina en frutos de pimiento picante bajo condiciones de estrés hídrico por sequía, encontrando una mayor concentración en frutos de la planta en condiciones más severas de estrés. Mani (2014) también encontró que el contenido de capsaicina en chiles tunecinos aumenta cuando se presentan condiciones de sequía.

En cuanto a los fenoles y flavonoides, estos son metabolitos secundarios que se acumulan en las plantas con estrés por sequía para contrarrestar la presencia de especies reactivas de oxígeno, debido a sus efectos antioxidantes (Ricardez-Miranda et al., 2021). En cuando al CaPIP1-1, este es un gen codificador de

acuaporinas (proteínas responsables del transporte transmembranal de agua), que juega un papel importante en la modulación del agua, el crecimiento y la tolerancia al estrés de plantas como las de chile (Yin et al., 2015).

### **3.6.2. Efectos de la salinidad sobre *Capsicum annuum L.***

Uno de los cultivos que se ha reportado como sensible al estrés salino es el chile (*Capsicum annuum L.*) (Kaya et al., 2020; Kijne, 2003). El crecimiento y rendimiento del cultivo de chile se ve afectado cuando se encuentra bajo condiciones de estrés por salinidad, ya que puede presentar daño a nivel celular por producción excesiva de especies reactivas de oxígeno y acumulación de iones. Se reporta la reducción significativa del peso de chile, bajo potencial osmótico en las hojas, mayor concentración de compuestos bioquímicos como el malondialdehído (MAD), mayor actividad de enzimas antioxidantes como superóxido dismutasa (SOD), peroxidasa (POD) y catalasa (CAT), así como el aumento de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$ , y la reducción la concentración de fósforo (P) y potasio (K) en el tejido foliar, creando un desbalance iónico (M. Butt et al., 2021).

Además, se ha encontrado que, bajo condiciones de salinidad, las plantas de chile disminuyen la eficiencia en el uso de agua, así como la absorción de nutrientes como el nitrógeno (N) (Huez-López et al., 2011). Cabe mencionar que, las plantas estresadas con salinidad presentan este estrés durante gran parte de su ciclo fenológico, por lo cual y debido a que no existen trabajos existentes en chile en la que analicen este estrés durante gran porcentaje de su ciclo fenológico, este tipo de estudios ayudarían a comprender más el impacto de la salinidad en plantas.

Algunas investigaciones se han orientado a evaluar el efecto de condiciones de salinidad sobre plantas de chile. Azuma et al., (2010), investigaron los efectos de estrés por sales con  $\text{NaCl}$  (0, 50 y 100 mM de  $\text{NaCl}$  twice) sobre el crecimiento de la planta, intercambio de gases, actividad de la enzima superóxido dismutasa, tasa de peroxidación de lípidos y acumulación de iones de sodio ( $\text{Na}^+$ ) y azúcar en hojas y frutos de plantas de pimiento (*C. annuum L.*), bajo condiciones de invernadero. Dichos autores concluyeron que este estudio demuestra que el crecimiento de las plantas de pimiento se inhibe por la salinidad en el suelo, debido a la reducción de

la fotosíntesis y la acumulación de  $\text{Na}^+$ , así como la formación de especies reactivas de oxígeno por el nivel de peroxidación lipídica.

Huez-López et al. (2011) realizaron una comparación entre la tolerancia a la sal en plantas de chile con fertilización orgánica e inorgánica y estudiaron los efectos de la salinidad y la fuente de nitrógeno sobre la eficiencia del uso de nitrógeno y agua en las plantas; obteniendo un rendimiento de chile fertilizado similar con dosis bajas de ambas fuentes de nitrógeno, mayor tolerancia a la sal con la aplicación de fertilizante orgánico, mayores rendimientos en chile fertilizado con altas tasas de nitrógeno orgánico y una mayor tolerancia a la sal en chile fertilizado con baja tasa de nitrógeno inorgánico.

### **3.7. Metabolitos y genes asociados con el estrés por sequía y salinidad en plantas de chile**

#### **3.7.1. Especies reactivas de oxígeno (ROS)**

Las especies reactivas de oxígeno son moléculas que contienen oxígeno con alto potencial oxidante. Este término incluye peróxido de hidrógeno no radical ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) y oxígeno diatómico ( $\text{O}_2$ ), así como radicales libres centrados en oxígeno, como el radical anión superóxido ( $\text{O}_2^-$ ) o el radical hidroxilo ( $\text{OH}$ ) (Hideg et al., 2013).

Las ROS son subproductos metabólicos producidas de manera endógena por varios orgánulos y compartimentos de las plantas como los cloroplastos, mitocondrias y peroxisomas, los cuales tienen altas tasas de transporte de electrones que actúan como mensajeros celulares y reguladores de procesos químicos de oxido-reducción en diversos procesos biológicos de las plantas (Raja et al., 2017). Una serie de vías metabólicas que funcionan en varios orgánulos producen continuamente ROS como sus subproductos. El cloroplasto, las mitocondrias y los peroxisomas son los orgánulos celulares que liberan ROS (Sandalio et al., 2013) debido a sus mayores actividades metabólicas oxidantes y tasas rápidas de flujo de electrones (Demidchik, 2015).

La acumulación excesiva de ROS causa estrés oxidativo, lo que conduce a la desnaturalización de proteínas, peroxidación de lípidos y degradación de

nucleótidos, resultando en el daño celular y finalmente muerte celular. Los enfoques funcionales han proporcionado evidencia de la convergencia de las vías de señalización que regulan las respuestas de las plantas a las señales de desarrollo y los factores de estrés abiótico y biótico (Raja et al., 2017). Sin embargo, las plantas han adaptado sus procesos fisiológicos, bioquímicos y moleculares para evitar los efectos letales de ROS y utilizarlos como moléculas de señalización (Vaahtera et al., 2014; Considine et al., 2015; Mignolet-Spruyt et al., 2016), por lo que disponen de una serie de proteínas desintoxicantes de ROS como mecanismo de defensa (Mignolet-Spruyt et al., 2016).

### 3.7.2. Prolina

Durante condiciones de estrés, las plantas acumulan osmolitos como la glicina betaína, azúcares (manitol, sorbitol, trehalosa), glicerol poliaminas, L-prolina (Anjum et al., 2017; Sharma et al., 2019). Entre ellos, la prolina es el osmolito más importante bajo condiciones de estrés por sequía (Sharma et al., 2019).

Estos osmolitos los emplean las plantas para contrarrestar el estrés, a través del uso de diversos mecanismos, como el cambio de presión celular, desintoxicación de ROS, protección de la membrana plasmática y ajuste de compuestos/proteínas (Shamsul Hayat et al., 2012), confiriendo tolerancia a las células sin interferir con la maquinaria celular de la planta (Anjum et al., 2017).

La prolina representa menos del 5% de una mezcla de aminoácidos libres en plantas que se encuentran en condiciones normales (Shahbaz et al., 2013). Sin embargo, bajo cualquier situación de estrés, se ha reportado que la prolina representa alrededor del 80% de esta mezcla de aminoácidos (Meena et al., 2019).

Muchas especies de plantas sometidas a diversos factores de estrés sintetizan L-prolina en el citosol y luego se acumula en los cloroplastos. La acumulación de este metabolito es una respuesta fisiológica al estrés osmótico ocasionado por la sequía, salinidad y otros factores abióticos (Meena et al., 2019). La prolina es un aminoácido que juega un papel importante ante la presencia de este tipo de factores, actuando como osmoprotector, quelante de metales, molécula de defensa antioxidante eliminando ROS y de señalización (Shamsul Hayat et al., 2012). Su capacidad osmoprotectora se ha estudiado ampliamente, atribuyéndole funciones de regulación en la mejora de la floración, producción de polen y aumento del área foliar (Meena et al., 2019).

Las plantas sintetizan la prolina mediante dos vías: vía del glutamato y vía de la ornitina. La vía del glutamato explica la acumulación de esta sustancia orgánica durante el estrés osmótico. La prolina se sintetiza a partir del ácido glutámico a través del  $\Delta$ -1-pirrolina 5-carboxilato (P5C) y es catalizada por  $\Delta$ -1-pirrolina 5-carboxilato sintetasa (P5CS) y  $\Delta$ -1-pirrolina 5-carboxilato reductasa (P5CR). Además, el catabolismo de la prolina ocurre en las mitocondrias mediante la acción

cronológica de la prolina deshidrogenasa o prolina oxidasa (PDH o POX) que produce P5C a partir de prolina y P5C deshidrogenasa (P5CDH) que convierte P5C a glutamato (Shamsul Hayat et al., 2012).

La prolina también puede ser sintetizada mediante la vía alterna (vía de la ornitina), donde la ornitina se transamina a P5C por la ornitina- $\delta$ -aminotransferasa. Dicha vía es de gran relevancia durante el desarrollo de las plántulas y cuando las plantas están sometidas a algún tipo de estrés, provocando acumulación de prolina (Xue et al., 2009; Hayat et al., 2012).

En algunas investigaciones se ha observado aumento en los niveles de prolina en plantas sometidas a diversas condiciones de estrés. En condiciones de sequía, Alexieva et al., (2001) y Yamada et al., (2005) observaron acumulación de prolina en cultivos de guisantes y petunias (*Petunia hybrida*), respectivamente. Sahitya et al., (2018), estudiaron la relación entre el potencial antioxidante del extracto de semilla de chile y la tolerancia al estrés hídrico en la fase de plántulas, sometiendo diferentes genotipos de chile a tres condiciones de estrés por sequía (100, 80 y 60% de capacidad de campo), donde encontraron que las plántulas sometidas al nivel de estrés más severo presentaron un mayor contenido de prolina, lo que sugiere que, las plantas de chile tiene una mayor tolerancia al estrés por sequía al haber una acumulación más alta de este aminoácido.

En condiciones de salinidad, se ha observado una correlación de la biosíntesis de prolina con una mayor tolerancia al estrés (Sumithra et al., 2006; Ahmad et al., 2010). La acumulación de prolina en la planta es un mecanismo de adaptación al estrés por salinidad (Mirza Hasanuzzaman et al., 2013), debido a que regula los niveles de transcripción de las proteínas sensibles a este factor, mejorando la adaptación de la planta a dicha condición (Khedr et al., 2003). En cultivos de chile sometidos a condiciones de estrés con NaCl, Zhani et al. (2012) determinaron una mayor cantidad de prolina en plantas sometidas a niveles de severidad más altos (12 mg/L).

### 3.7.3. Capsaicinoides

Los capsaicinoides son metabolitos secundarios responsables de la pungencia en los frutos de chile (*Capsicum spp.*) y tienen diversos beneficios para la salud y aplicaciones industriales (Naves et al., 2019). La capsaicina (trans-8-metil-N-vanillil-6-nonenamida) y la hidrocapsaicina (*8-metil-N-vanililnonanamida*) son los principales representantes de este grupo de metabolitos (90% del contenido total de capsaicinoides) (Aza-González et al., 2011; Barbero et al., 2014).

Dichos componentes se analizan generalmente mediante técnicas analíticas como la cromatografía de gases y la cromatografía líquida de alta resolución, sin embargo, estas técnicas no son prácticas para el análisis de masas de las muestras de chile, por lo que también se puede utilizar el método colorimétrico para determinarlos (Ryu et al., 2017).

Sung et al., (2005), estudiaron la biosíntesis de capsaicina en frutos de pimiento picante bajo condiciones de estrés hídrico por sequía, encontrando una mayor concentración en frutos de la planta en condiciones más severas de estrés, que se asocia al aumento de la actividad de las enzimas fenilalanina amonio liasa (PAL), cinamato 4-hidroxilasa (C4H) y citrato sintasa (CS). Mani (2014), coincide con este resultado al encontrar que el contenido de capsaicina en chiles tunecinos aumenta en condiciones de sequía.

## IV. Planteamiento del problema

La programación de riegos adecuada es fundamental para obtener rendimientos óptimos de los cultivos como el chile (Liu et al., 2012). En la actualidad, esta programación o prácticas no se realizan en función de las necesidades hídricas de las plantas ni de las características de los sustratos utilizados, lo que pudiera realizarse mediante la predicción y cuantificación de estos requerimientos a través de modelos matemáticos. Sin embargo, no se han reportado modelos aplicados a chile; y en los modelos existentes para otros cultivos, no se tiene en cuenta el estado homeostático de la planta en función de su estado ontogénico, sino que se basan

en variables indirectas como evapotranspiración, humedad y drenaje del suelo (Raes et al., 2006; Chopart et al., 2007; Luo et al., 2008; Babazadeh et al., 2017).

Además, estos modelos prestan menos atención a otros componentes como las funciones de respuesta de la misma planta a déficits hídricos (Dudley & Shani, 2003), en ese sentido se reporta únicamente la inclusión de variables morfológicas como el área foliar y altura de la planta (Mathobo et al., 2018; Kanda et al., 2020; Kanzari et al., 2020; Zhao et al., 2020), pero estas se limitan a un componente de los modelos de crecimiento de cultivos y su relación con las condiciones ambientales (Cemeck et al., 2020).

Por otra parte, en diversas investigaciones, la frecuencia con que se determinan las variables asociadas a déficits hídricos es específica de una etapa del ciclo fenológico o tiempos limitados, por lo que la cantidad de datos disponibles no permiten predecir con efectividad las necesidades de riego de la planta (Wang et al., 2018; Dalal et al., 2019; Jaswanthi et al., 2019; Du et al., 2020; Silva et al., 2020).

De otra parte, para optimizar la producción de chile en condiciones de estrés hídrico, es fundamental realizar un manejo óptimo del riego, donde la eficiencia en el uso del agua por parte de la planta tienda al 100% (Mardani, Tabatabaei, & Pessarakli, 2017). Para lo anterior, se debe contar con información completa sobre el uso del agua por las plantas, e identificación de déficit hídrico, mediante el efecto que ocasiona, a partir de un modelo matemático que prediga las necesidades hídricas del cultivo y con ello establecer prácticas de riego adecuadas.

Por lo tanto, la incógnita científica de esta investigación es determinar si los modelos matemáticos que incluyen la visión del estado homeostático descrito por las variables fisiológicas, bioquímicas y genéticas, a lo largo de los estados ontogénicos de las plantas de chiles, son capaces de predecir las condiciones de sequía y salinidad críticas para la planta de manera más precisa y robusta.

## V. Justificación

El estrés por sequía es el factor ambiental de mayor prevalencia que limita la productividad agrícola (Bray, 1997; Basu et al., 2016), ya que se presenta en el 45% de las tierras agrícolas en el mundo (Tester & Langridge, 2010; Kaushal & Wani, 2016; Zhu, 2016). Este tipo de estrés hídrico se produce por bajas precipitaciones, salinidad de los suelos, temperaturas extremas y alta intensidad lumínica (Salehi-Lisar & Bakhshayeshan-Agdam, 2016), cuya frecuencia aumenta por el cambio climático (Dai, 2013), que entre el 2005 y el 2015 provocó pérdidas para la agricultura mundial de 29 mil millones de dólares (FAO, 2018). En México, durante 2011, se registrarón pérdidas mayores a 15 mil millones de pesos por hectáreas pérdidas en cultivos como maíz y frijol, a causa de sequías (Expansión, 2012).

Por otro lado, el estrés por salinidad es otro de los factores que tienen mayor impacto sobre la productividad de cultivos agrícolas (Shrivastava & Kumar, 2015; Mariani & Ferrante, 2017), impactando al 19.5 % de las tierras agrícolas irrigadas en el mundo (Reis et al., 2012; Abdelraheem et al., 2019). Este factor es una limitante a nivel global y en México, en este último, alrededor del 10% del área irrigada está afectada por salinidad, especialmente en las regiones centro y norte del país, agudizándose en zonas áridas y semiáridas (Ruiz et al., 2007). Un exceso de sales en el suelo o agua de riego disminuye el rendimiento de los cultivos en más del 50% (Bray et al., 2000; Kaouther et al., 2017).

Dentro de las estrategias para la prevención y manejo de la sequía en suelos agrícolas, se encuentran las prácticas de riego. Un sistema de riego adecuado suministra a las plantas la cantidad necesaria de agua en el momento y a la profundidad requeridos (SIAP, 2018b). En México, se emplean los métodos de riego presurizados como el goteo, aspersión y microaspersión, donde se utilizan equipos de bombeo y tuberías para la conducción del agua hasta la zona radicular de los cultivos (FESCUNAM, 2018), y el método de riego por gravedad o de superficie, que consiste en la distribución del agua a través de surcos o canales colocados a lo largo de la parcela (SIAP, 2018b).

Este último método es empleado en más del 90% de la superficie agrícola, sin embargo, genera un uso desmedido del agua y muestra un bajo índice de aprovechamiento debido a pérdidas por evaporación, percolación y fugas (FESCUNAM, 2018). Las pérdidas de agua durante el riego oscilan entre 45 y 60%, debido principalmente a infraestructura ineficiente, generan incremento en los costos de producción y reducción en la disponibilidad de este recurso (Cisneros, 2003). Por otro lado, según SIAP (2018b), la manera de realizar el riego podría generar mejores rendimientos y por lo tanto mayores ingresos económicos a los productores, así como un mejor uso al recurso hídrico que cada vez es más escaso.

Por su parte, el chile es uno de los tres cultivos de solanáceas más importantes del mundo (Navarro et al., 2006), ubicándose como el segundo vegetal más consumido a nivel mundial (Madhavi et al., 2016; Rodríguez-Calzada et al., 2019). Es el cultivo de hortalizas de mayor valor económico en todo el mundo (Patil, 2020), con un área cosechada de 1,990,423 ha y una producción mundial de 36'771,482 ton (FAOSTAT, 2019). La mayor diversidad de esta especie se encuentra en México (SNICS, 2017), con un área cosechada de 156,798.97 ha y una producción de 3,379,289.15 ton, lo que representa un valor monetario de alrededor de 30 mil millones de pesos (SIAP, 2018).

El chile es uno de los cultivos hortícolas más susceptibles al estrés por sequía (Reddy et al., 2016), debido a su alta tasa de transpiración de la superficie de las hojas, alta conductancia estomática (Alvino et al., 1994; Wale & Girmay, 2019) y sistema radicular poco profundo (Liu et al., 2012). La exposición a condiciones de sequía durante su crecimiento representa una pérdida de rendimiento de entre el 30 y el 70%, por lo que su productividad anual es fluctuante (Madhavi et al., 2016). Este cultivo al aire libre requiere hasta  $4500\text{ m}^3\text{ de agua.ha}^{-1}$  y en invernaderos hasta  $8000\text{ m}^3\text{ de agua.ha}^{-1}$ , dependiendo de la etapa del ciclo fenológico, cuya restricción puede afectar no sólo los rendimientos, sino también la calidad del fruto (Álvarez & Pino, 2015). Por otra parte, es moderadamente sensible al estrés salino, lo que reduce el crecimiento y el rendimiento de las plantas (Kijne, 2003; Kaya et al., 2020).

Por lo tanto, es necesario el establecimiento de estrategias que permitan hacer un uso eficiente del agua del riego en cultivos agrícolas de interés comercial, como es el caso de chile, y con ello hacer frente a condiciones de sequía y salinidad del suelo, lo que podría realizarse mediante la predicción y cuantificación de las necesidades hídricas de las plantas y su relación con la salinidad, a través del desarrollo de modelos matemáticos que integren las principales variables biológicas que se ven afectadas con estos tipos de estrés.

## VI. Hipótesis

La integración de variables de respuestas morfológicas, fisiológicas, bioquímicas y genéticas, monitoreadas a lo largo del ciclo fenológico de *Capsicum annuum* L., en modelos matemáticos, aumentan la precisión en la estimación y predicción de estrés por sequía y salinidad, debido a que estas variables describen el estado homeostático de la planta y su comportamiento en el tiempo. Además, una mayor resolución temporal permite generar un modelo más robusto, en comparación con los modelos basados en variables indirectas medidas en tiempos determinados del cultivo.

## **VII. Objetivos**

### **7.1. Objetivo general**

Desarrollar modelos matemáticos mediante la integración de variables morfológicas, fisiológicas, bioquímicas y/o genéticas, que permitan la detección del estrés por sequía y salinidad en cultivos de *Capcisum annuum* L. bajo condiciones de invernadero.

### **7.2. Objetivos específicos**

- Determinar las respuestas morfo-fisiológicas al estrés por sequía y al estrés por salinidad en plantas de chile (*C. annuum* L.), en etapas importantes de su ciclo fenológico.
- Evaluar el efecto del estrés por sequía y salinidad sobre variables bioquímicas en plantas de chile (*C. annuum* L.), en etapas importantes de su ciclo fenológico.
- Determinar el efecto del estrés por sequía y salinidad sobre la expresión de genes asociados a estos tipos de estrés en plantas de chile (*C. annuum* L.), durante etapas importantes de su ciclo fenológico.
- Construir modelos matemáticos que estimen el estrés por sequía y salinidad en plantas de chile (*C. annuum* L.).

## VIII. Materiales y métodos

### 8.1. Ubicación del área experimental

La investigación fue realizada en un invernadero experimental con un área de 63 m<sup>2</sup>, localizado en la Universidad Autónoma de Querétaro, Campus Amazcala, el Marqués, Querétaro, México, con coordenadas 20°70'55.3"N, 100°25'93.09"Q (Figura 2). Se monitorearon las condiciones ambientales dentro del invernadero durante el curso de los experimentos. La temperatura y la humedad relativa se monitorearon mediante un termohigrómetro Data Logger Elitech GSP-6/RC-61 (Elitech Technology Inc, USA). La radiación solar se midió con un medidor de radiación fotosintéticamente activa, modelo LGBQM2 (Photobio, Phantom Quantum). La concentración de CO<sub>2</sub> se monitoreó con un medidor digital de dióxido de carbono modelo CO<sub>2</sub>-100 (Amprobe, USA).

Se realizó la evaluación del efecto de condiciones de estrés por sequía y de estrés por salinidad en plantas de chile jalapeño, las cuales serán descritas en esta sección.



Figura 2. Ubicación del área experimental.

## 8.2. Estrés por sequía

### 8.2.1. Obtención del material vegetal

La investigación fue realizada en plantas de chile jalapeño variedad M. (*Capsicum annuum* L.) bajo en condiciones de invernadero. Las semillas de chile jalapeño (Westar Seeds International, USA) se sumergieron en agua potable durante 12 horas con la finalidad de activarlas.

Posteriormente, las semillas fueron sembradas en una charola de germinación de polipropileno con 240 cavidades, cada cavidad contenía sustrato peat moss (Hawita profesional, spezial substrate) humedecido a capacidad de campo. Se pusieron 2 semillas por cavidad a una profundidad de 1.0 cm y se cubrieron con el sustrato.

Finalmente, con el objetivo de mantener la humedad del sustrato y evitar el desarrollo de hongos, la charola se cubrió con vermiculita exfoliada (Vermilita, Termolita, México) y se dejó en oscuridad dentro de una bolsa de plástico negra a temperatura y humedad relativa del ambiente, hasta su germinación. Cuando se visualizaron los primeros brotes, la charola fue expuesta a luz solar indirecta y se regó diariamente con 2 mL de agua por cavidad, hasta su trasplante.

Las plántulas con 3 a 5 hojas (45 días después de la germinación de las semillas) fueron trasplantadas en bolsas de plástico para vivero de 30 cm de largo x 30 cm de ancho y un diámetro de 19.5 cm, con capacidad para 5 L. Cada bolsa contenía 3 kg de una mezcla de peat moss (Hawita profesional, super terra ST1), tezontle y arenilla con un tamaño de partícula de 3.0 mm, las proporciones de la mezcla y cantidades por bolsa se presentan en el Cuadro 6.

Cuadro 6. Composición del sustrato de siembra.

Componente	Proporción en la mezcla (%)	Cantidad para 3 kg de mezcla (kg)
Tezontle	60	1.8
Peat Moss	25	0.75
Arenilla	15	0.45

Las plántulas fueron distribuidas en 4 canaletas, con 20 unidades cada una, separadas entre sí con una distancia de 25 cm. Las plántulas fueron regadas diariamente, a capacidad de campo con 500 mL de agua (pH 6.5), distribuida en 8 riegos de 85 s cada hora, desde las 11:00 a.m. hasta las 6:00 p.m. Esta condición de riego se mantuvo hasta el inicio de los tratamientos de estrés por sequía.

### 8.2.2. Establecimiento del diseño experimental

Para la evaluación del efecto del estrés por sequía en plantas de chile jalapeño, se estableció un diseño unifactorial con 4 niveles, siendo el factor la capacidad de campo del sustrato (CC), con los niveles: 40% CC, 60% CC, 80% CC y 100% CC, con base en lo reportado por Anjum et al. (2017).

Se establecieron los volúmenes de fertiriego y tiempos de irrigación diaria para mantener la capacidades de campo establecidas (Cuadro 7). Los tratamientos se clasificaron de la siguiente manera:

- 40 % CC como sequía severa (SS)
- 60 % CC como sequía moderada (SM)
- 80 % CC como sequía ligera (SL)
- 100 % CC como sin sequía (control)

Para controlar el volumen diario de fertiriego en cada tratamiento, se programó un sistema de riego por goteo mediante válvulas de bola motorizadas de 1/2 pulgada (Oumeifar, China), que se abrían y cerraban mediante un motor de alto par. Se utilizaron goteros ClickTIF HD con un caudal de 3 L.h<sup>-1</sup> (NDJ, México).

Cuadro 7. Condiciones de sequía evaluadas en plantas de *Capsicum annuum L.*

Capacidad de campo (%)	Volumen del fertiriego (mL*día <sup>-1</sup> )	Tiempo de irrigación (min*día <sup>-1</sup> )
40	202.56	4.48
60	303.84	6.72
80	405.12	8.96
100	506.4	11.2

Se utilizó una solución de Steiner para la fertirrigación (Cuadro 8), manteniendo una conductividad eléctrica de 2.0 dS.m<sup>-1</sup> y un pH de 6.0. Se calculó el coeficiente

de uniformidad (UC) según Moshe (2006), con el fin de verificar el funcionamiento del sistema de riego para cada tratamiento, el cual se mantuvo por encima del 95%.

Cuadro 8. Composición de la solución nutritiva Steiner al 100% para 2500 L.

Nº	Componentes	Cantidad base	Cantidad para 2500 L
		mg*L <sup>-1</sup>	g
1	Nitrato de Calcio (Ca[NO <sub>3</sub> ] <sub>2</sub> )	708	1770.00
2	Nitrato de Potasio (KNO <sub>3</sub> )	404.5	1011.25
3	Cloruro de Potasio (KCl)	149	372.50
4	Cloruro de Calcio (CaCl <sub>2</sub> )	137	342.50
5	Sulfato de Potasio (K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	87.13	217.83
6	Sulfato de Magnesio (MgSO <sub>4</sub> )	392.5	981.25
7	Nitrato de Magnesio (Mg[NO <sub>3</sub> ] <sub>2</sub> )	128	320.00
	Quelatos	g/L	G
8	Hierro (Fe)	0.1	250.00
9	Cobre (Cu)	0.0074	18.50
10	Zinc (Zn)	0.003	7.50
11	Boro (B)	0.5	1250.00
12	Molibdeno (Mo)	0.00185	4.63
13	Manganoso (Mn)	0.01	25.00
	Ácido	(mL*L <sup>-1</sup> )	mL
14	Ácido fosfórico	0.125	312.5

Los tratamientos se aplicaron a las plantas de chile jalapeño de manera permanente durante un periodo de 69 días, comprendido entre los días 21 y 90 después del trasplante, desde su etapa vegetativa hasta la fructificación.

La población total fue de 80 plantas, con 20 unidades por cada tratamiento, organizadas mediante un diseño de bloques completamente al azar. Se establecieron cuatro bloques, cada uno conformado por cinco unidades experimentales, para un total de 20 plantas por tratamiento (Figura 3).

	Canaleta 1	Canaleta 2	Canaleta 3	Canaleta 4
Bloque 1	2	3	1	4
Bloque 2	2	3	1	4
Bloque 3	3	4	2	1
Bloque 4	3	4	2	1
	3	4	2	1
	1	2	4	3
	1	2	4	3
	1	2	4	3
	4	1	3	2
	4	1	3	2
	4	1	3	2
	4	1	3	2

Figura 3. Diseño experimental de bloques al azar. Los números representan los tratamientos de sequía, siendo 1 sequía severa (40% CC), 2 sequía moderada (60% CC), 3 sequía ligera (80%CC) y 4 el grupo control (100% CC).

### 8.2.3. Determinación de las respuestas morfo-fisiológicas al estrés por sequía en plantas de chile jalapeño

Se monitorearon las respuestas morfológicas y fisiológicas de las plantas de chile jalapeño sometidas a las condiciones de estrés por sequía permanente. La altura de la planta, el diámetro basal, el número de hojas, flores y frutos, masa de las plantas, la tasa de fotosíntesis, la tasa de transpiración, la conductancia estomática, y el déficit de presión de vapor se monitorearon cada 3 días, desde el día 0 hasta el día 69 de tratamiento (DT). La masa de las plantas se midió cada siete días (día 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 72 DT). Se determinó el peso fresco de planta (raíz, hojas y tallo), así como el diámetro ecuatorial y polar de frutos al finalizar los tratamientos (69 DT).

### ***a. Respuestas morfológicas***

Plantas: Se determinó el efecto de los tratamientos de estrés por sequía sobre la altura de la planta, diámetro del tallo, número de hojas, número de flores y frutos, así como el peso de las plantas. La altura se midió con un flexómetro desde la base del tallo hasta la zona apical y se expresó en cm. El diámetro del tallo se midió con un vernier calibrador 150 mm (6") de acero inoxidable (Karlen) y se expresó en mm. El conteo de hojas, flores y frutos se realizó manualmente y se expresó como número de hojas, flores o frutos por planta. La masa de las plantas se determinó mediante una báscula L-PCR20 (Torrey, México), cada siete días, y se expresó como kg por planta.

Frutos. Después de 69 días de imposición de los tratamientos de sequía, se cosecharon todos los frutos por planta. Se contó manualmente el número de chiles por planta, y se midió su tamaño (diámetro ecuatorial y polar) con un vernier. Se registraron los pesos de todos los frutos con una báscula digital Alfa (Aquila Alfa) y se determinó el rendimiento del fruto, expresado como kg de fruto fresco por planta.

### ***b. Propiedades fisiológicas***

Se midieron la fotosíntesis ( $P_n$ ), la transpiración (E), la conductancia estomática ( $G_s$ ), el déficit de presión de vapor (VPD) y el índice de vegetación de diferencia normalizada (NDVI). Se utilizó un conjunto de sensores inteligentes basados en un controlador de matriz de puertas programables en campo (FPGA) y un sistema de intercambio de CO<sub>2</sub> para monitorear la concentración de CO<sub>2</sub> en la atmósfera y alrededor de la hoja, el aire, la temperatura de la hoja y el intercambio de vapor de H<sub>2</sub>O, por medio del dispositivo mostrado en la Figura 4. Esas mediciones se utilizaron para calcular  $P_n$  ( $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ), E ( $\text{mg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ),  $G_s$  ( $\text{mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) y VPD (kPa) (Duarte-Galvan et al., 2014; Millan-Almaraz et al., 2013). Se seleccionaron al azar cuatro plantas por tratamiento y se analizó una hoja de la zona apical de cada planta. Para calcular el NDVI, se generó una base de datos de imágenes de todas las plantas sometidas a tratamientos de estrés por sequía tomando fotografías del dosel de cada planta de todos los tratamientos con una cámara Canon PowerShot A480 modificada y analizando estas imágenes de acuerdo con la metodología

reportada por Solano-Alvarez et al. (2022). Todas las imágenes se obtuvieron cada tres días durante el experimento y se procesaron utilizando Python y la biblioteca OpenCV (Python Software Foundation, EE. UU.).



Figura 4. Cámara de intercambio de gases conectada a monitor para la estimación de fotosíntesis, transpiración, conductancia estomática e índice de presión de vapor.

#### **8.2.4. Determinación del efecto del estrés por sequía sobre variables bioquímicas en plantas de chile jalapeño**

Hojas de chile jalapeño: Se determinó el contenido de prolina y la actividad de enzimas antioxidantes como catalasa (E.C. 1.11.1.6), peroxidasa (E.C. 1.11.1.7), superóxido dismutasa (E.C. 1.15.1.1), y ascorbato peroxidasa (E.C. 1.6.5.4), además de la actividad enzimática de fenilalanina amonio liasa (E.C. 4.3.1.5), en muestras de hojas de las plantas de chile jalapeño. Los muestreos de hojas se realizaron cortando una hoja de la zona apical de cada planta (20 hojas por tratamiento), las cuales se congelaron con nitrógeno líquido y se conservaron en ultracongelación (-42 °C) hasta su análisis. Las hojas se muestrearon cada dos semanas desde el inicio de los tratamientos (0, 14, 28, 42, 56, 70 DT).

##### **a. Determinación del contenido de prolina**

El contenido de prolina se determinó de acuerdo con Lee et al. (2018). Los extractos de prolina se obtuvieron mediante la homogeneización de una mezcla de

hojas conservadas en ultracongelación (30 mg) con 1 mL de ácido sulfosalicílico al 1% (p/v) (Karal, Guanajuato, México). Las muestras homogeneizadas se centrifugaron durante 10 min a 10,000 rpm y 4°C. Después, 300 µL de cada extracto se homogeneizaron con 600 µL de solución de ninhidrina al 1.25% (p/v) (Sigma-Aldrich, Canadá) disuelta en ácido acético glacial (J.T. Baker, Xalostoc, México). Cada mezcla se incubó en baño de agua durante 60 min a 90±3°C. La reacción se detuvo enfriando las muestras en el congelador de un refrigerador durante 10 min. Después de 5 min a temperatura ambiente, se colocaron 300 µL de cada muestra en un pozo de una microplaca de 96 pozos. La absorbancia de las muestras se midió a  $\lambda_{510\text{nm}}$  en un espectrofotómetro de microplacas Multiskan SkyHigh Thermo Scientific (Thermo-Fisher, USA). La determinación se realizó por triplicado.

Se realizó una curva de calibración con un estándar de prolina (Sigma-Aldrich, Canadá) a concentraciones de 0 a 50 µg.mL<sup>-1</sup> (Cuadro 9), por duplicado. Las muestras de solución estándar se trajeron de la misma forma que las muestras analizadas. El blanco de la reacción se obtuvo sustituyendo el extracto de la muestra por una solución de ácido sulfosalicílico (1% p/v). La cantidad de prolina se expresó como mg de prolina por g de hoja.

Cuadro 9. Reactivos y concentraciones para realizar la curva de calibración de prolina.

Concentración de prolina (µg.mL <sup>-1</sup> )	Solución estándar de prolina (200 µg.mL <sup>-1</sup> ) (µL)	Solución de ácido sulfosalicílico (1% p/v) (µL)	Solución de ninhidrina al 1.25% (p/v) (µL)
0	0	300	600
5	30	270	600
10	60	240	600
15	90	210	600
20	120	180	600
25	150	150	600
30	180	120	600
35	210	90	600
40	240	60	600
45	270	30	600
50	300	0	600

### ***b. Determinación de la actividad enzimática***

Determinación de proteína: La actividad enzimática de catalasa (CAT), peroxidasa (POD), superóxido dismutasa (SOD), fenilalanina amoniaco liasa (PAL) y ascorbato peroxidasa (APX) se expresó como una unidad enzimática por g de proteína. Por lo anterior, se determinó el contenido de proteína en el tejido foliar mediante el método de Bradford, adaptando la técnica a microplaca (Bradford, 1976; Sandeep Kumar et al., 2022).

Se realizó la extracción de proteína homogenizando 0.1 g de muestra vegetal (hojas conservadas en ultracongelación) con 500  $\mu$ L de disolución amortiguadora Tris-HCl 1 M (pH 6.8) (Roche Diagnostics GmbH, Alemania) y centrifugando la solución a 12,000 rpm durante 20 min a 4 °C. Se conservó el sobrenadante (extracto proteico) a 4°C y se procedió a su análisis. Para el ensayo de cuantificación, se adicionaron 50  $\mu$ L de extracto proteico y 250  $\mu$ L del reactivo de Bradford en cada pozo de una microplaca de poliestireno de 96 pozos; cada solución fue mezclada e incubada durante 20 min a temperatura ambiente, y se midió su absorbancia a  $\lambda_{595\text{nm}}$  en un espectrofotómetro Multiskan SkyHigh Thermo Scientific.

Para determinar el contenido proteico de las muestras se realizó una curva de calibración utilizando una curva de calibración con albúmina de suero bovino “ASB” con pureza  $\geq$  96% (Sigma-Aldrich, Canadá). A partir de a 250  $\mu$ g/mL de ASB se realizaron diluciones para obtener concentraciones de 0-100  $\mu$ g.mL $^{-1}$ , por duplicado. A 250  $\mu$ L de cada dilución se le adicionó 1.25 mL del reactivo de Bradford (Sigma-Aldrich, Canadá), la mezcla se agitó en un vórtex MX-S (DLAB Scientific Inc., China), se incubó durante 20 min y se midió su absorbancia a  $\lambda_{595\text{nm}}$ . Las concentraciones y volúmenes de reactivos utilizados para la curva de calibración se presentan en el Cuadro 10. La cantidad de proteína se expresó  $\mu$ g equivalentes de proteína por mg de hoja.

Cuadro 10. Reactivos utilizados para realizar la curva de calibración de proteína por el método de Bradford.

Concentración ASB ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ )	Solución estándar de proteína "ASB" (250 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ) ( $\mu\text{L}$ )	Disolución amortiguadora TrisHCl 1 M ( $\mu\text{L}$ )	Reactivos de Bradford (mL)
0	0	250	1.25
0.5	0.5	249.5	1.25
1	1	249	1.25
5	5	245	1.25
10	10	240	1.25
15	15	235	1.25
20	20	230	1.25
25	25	225	1.25
50	50	200	1.25
75	75	175	1.25
100	100	150	1.25

Catalasa (E.C. 1.11.1.6): Se realizó la determinación de la actividad enzimática de CAT siguiendo la metodología reportada por Afifyanti & Chen (2014). Se realizó la extracción de la enzima CAT a partir de 0.1 g de hoja fresca, homogeneizado en 1 mL de una disolución amortiguadora que contenía Tris-HCl a 100 mM, glicerol al 20% (v/v) y 2-mercaptoetanol (Promega, USA) a 30 mM (pH 8.0; 4 °C). La mezcla se agitó en vórtex durante 2 min y se centrifugó a 12,000 rpm durante 15 min a 4 °C. El sobrenadante (extracto enzimático) se separó del sedimento y se almacenó a 4 °C, protegido de la luz.

La determinación de CAT se realizó adicionando 260  $\mu\text{L}$  de la disolución amortiguadora de fosfato de potasio 50 mM (pH 8.0) en los pozos de una microplaca de poliestireno transparente de 96 pozos, seguido de 26  $\mu\text{L}$  de una solución de peróxido de hidrógeno 100 mM, y 13  $\mu\text{L}$  de extracto enzimático. Se midió el cambio de absorbancia a  $\lambda_{240\text{nm}}$  en un espectrofotómetro Multiskan SkyHigh Thermo Scientific, cada minuto durante 6 min. La actividad de CAT se expresó como unidades enzimáticas (U) por mg de proteína. La unidad enzimática se define como la cantidad de enzima (CAT) que cataliza 1  $\mu\text{mol}/\text{min}$  de peróxido de hidrógeno, bajo

las condiciones del ensayo. Se utilizó la Ecuación (3) para calcular la actividad de CAT se presenta a continuación:

$$CAT (U) = \frac{(\Delta A_{240\text{ nm}})(Vt)(FD)}{(\varepsilon)(Ve)(L)} \quad (3)$$

donde  $\Delta A_{240\text{nm}}$  es el cambio de absorbancia por min,  $Ve$  es el volumen del extracto,  $Vt$  es el volumen total del ensayo, FD es el factor de dilución,  $\varepsilon$  es el coeficiente de extinción molar de peróxido de hidrógeno ( $39.4 \text{ Mm}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ), L es la longitud de la celda (cm).

Superóxido dismutasa (EC.1.15.1.1): La actividad de SOD se determinó por espectrofotometría ( $\lambda_{560\text{nm}}$ ) por la inhibición de la reducción de nitroazul de tetrazolio (NBT, por sus siglas en inglés), siguiendo la metodología reportada por Hayat et al., (2018), con modificaciones. Se realizó la extracción de la enzima SOD a partir de 0.1 g de hoja fresca homogeneizado en 1 mL de una disolución amortiguadora de fosfato de potasio 50 mM (pH 7.8). La mezcla se agitó en vórtex durante 2 min y se centrifugó a 12,000 rpm durante 15 min a 4 °C. El sobrenadante (extracto enzimático) se separó del sedimento y se almacenó a 4 °C, protegiéndose de la luz.

Para el ensayo de la actividad enzimática de SOD se pusieron 750  $\mu\text{L}$  de una disolución amortiguadora de fosfato de potasio 50 mM (pH 7.8) en un microtubo de 1.5 mL. A este volumen se añadieron 150  $\mu\text{L}$  de EDTA- $\text{Na}_2$  0.1 mM, 150  $\mu\text{L}$  de metionina 0.13 M, 150  $\mu\text{L}$  de NBT 0.75 mM, 150  $\mu\text{L}$  de riboflavina 0.02 mM y 150  $\mu\text{L}$  del extracto enzimático. Para el blanco, se añadieron 150  $\mu\text{L}$  de EDTA- $\text{Na}_2$  0.1 mM, 150  $\mu\text{L}$  de metionina 0.13 M, 150  $\mu\text{L}$  de NBT 0.75 mM, 150  $\mu\text{L}$  de riboflavina 0.02 mM y 150  $\mu\text{L}$  de agua destilada. Los tubos con las soluciones se mezclaron por inversión, se expusieron a 125 lux durante 15 min, seguido de mezcla por inversión, y se midió su absorbancia a 560 nm. Las determinaciones se realizaron por duplicado para cada uno de los tratamientos por día de muestreo. La actividad de SOD se expresó como U por g de proteína. Una U se define como la cantidad de enzima (SOD) que inhibe el 50% de la reducción de NBT por superóxido generados, bajo las condiciones del ensayo.

El porcentaje (%) de reducción de NBT se calculó utilizando la Ecuación (4):

$$\text{Inhibición del NBT (\%)} = \left(1 - \frac{A}{B}\right) * 100 \quad (4)$$

donde A es la absorbancia de la muestra de reacción a  $\lambda_{560nm}$ , B es la absorbancia del blanco de la reacción a  $\lambda_{560nm}$ .

La Ecuación (5), obtenida a partir de una curva patrón de% de inhibición de reducción de NBT versus actividad de SOD, fue utilizada para la determinación del% de inhibición de NBT para los extractos enzimáticos:

$$y = 8.6026 \ln(x) + 55.836 \quad (5)$$

donde y es el % de inhibición y x es la actividad de SOD (U.mL<sup>-1</sup>)

Peroxidasa (EC 1.11.1.7): La actividad de POD se determinó por espectrofotometría ( $\lambda_{470nm}$ ) con base en las metodologías reportadas por Kumar (2021) y Padró et al., (2021). El extracto enzimático de POD se obtuvo mezclando 0.1 g de muestra vegetal en 1 mL de una disolución amortiguadora de fosfato de potasio 50 mM (pH 6.5). La mezcla se agitó durante 2 min en vórtex y se centrifugó a 12,000 rpm durante 15 min a 4 °C. Finalmente se separó el sobrenadante (extracto enzimático) y se almacenó a 4 °C.

El ensayo de la actividad enzimática de POD se realizó colocando 300  $\mu$ L de la disolución amortiguadora de extracción (fosfato potásico 50 mM, pH 6.5) en pozos de una microplaca de poliestireno transparente de 96 pozos, seguido de la adición de 5  $\mu$ L de guayacol 20 mM, 10  $\mu$ L de peróxido de hidrogeno 25 mM y 10  $\mu$ L del extracto enzimático. Se agitó y se midió la absorbancia  $\lambda_{470nm}$  en el espectrofotómetro Thermo Scientific™ Multiskan™ FC, durante un periodo de 20 min tomando un registro de la absorbancia cada 30 segundos. La lectura de la reacción comenzó cuando la absorbancia de la reacción fue de 0.05 y se detuvo cuando alcanzó una absorbancia de 0.1. La actividad enzimática fue determinada por el nivel de producción de tetraguayacol de acuerdo con la Ecuación 6. Los resultados se expresaron en U.mg<sup>-1</sup> de proteína. Una unidad de actividad de

POD se define como la cantidad de enzima que causa la formación de 1  $\mu\text{mol}$  de tetraguayacol por minuto.

$$\text{Actividad de POD (U)} = \frac{(Abs \text{ muestra}_f - Abs \text{ muestra}_i) - Abs \text{ blanco}}{(E) (t)(V_e)(L)} \quad (6)$$

$$\Delta \text{Absorbancia}_{470\text{nm}} = (Abs \text{ muestra}_f - Abs \text{ muestra}_i) - Abs \text{ blanco}$$

donde  $V_t$  es el volumen total de reacción (mL),  $V_e$  es el volumen de extracto enzimático (mL),  $t$  es el tiempo de reacción (min),  $E$  es el coeficiente de extinción molar del tetraguayacol ( $26.6 \text{ mL} \cdot \mu\text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ),  $L$  es la longitud del haz de luz (1 cm).

Fenilalanina Amonio Liasa (E.C. 4.3.1.5): La actividad de PAL se determina espectrofotométricamente ( $\lambda_{290\text{nm}}$ ) por la cuantificación de ácido cinámico formado a partir de la catálisis de L-fenilalanina. Este ensayo se realizó con base en la metodología reportada por Toscano et al., (2018). Para la obtención de extractos enzimáticos de PAL se homogeneizaron 0.1 g de tejido foliar con 1 mL de una disolución amortiguadora de Borato 0.1 M con 2-Mercaptoetanol 0.1% (v/v) a pH de 8.8, agitando durante 2 min en un vórtex. Las soluciones fueron centrifugadas a 12,000 rpm durante 15 min (4 °C), se separó el sobrenadante (extracto enzimático) y se almacenó a 4 °C.

La determinación de la actividad de PAL se realizó colocando en cada pozo de una microplaca de poliestireno transparente de 96 pozos un volumen de 270  $\mu\text{L}$  de una disolución amortiguadora de Borato 0.1 M con L-Fenilalanina 10 mM (pH 8.8) y 30  $\mu\text{L}$  de extracto enzimático. La mezcla se incubó a 40 °C durante 60 min, tiempo después del cual se añadieron 50  $\mu\text{L}$  de una solución de HCl 1 N (para detener la reacción) y se dejó reposar durante 10 min. Posteriormente, se midió la absorbancia de cada mezcla a  $\lambda_{290\text{nm}}$ . Se tuvo un blanco que contenía 270  $\mu\text{L}$  de la disolución amortiguadora de reacción y 30  $\mu\text{L}$  de agua destilada. Se realizó una curva de calibración con ácido cinámico, partiendo de una solución estandar de 0.2 mg/mL y haciendo diluciones para alcanzar concentraciones entre 0 y 25  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , como se presenta en el Cuadro 11.

Cuadro 11. Reactivos utilizados para realizar la curva de calibración de ácido cinámico para determinación de la actividad de PAL.

Ácido cinámico ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ )	Solución estándar de ácido cinámico ( $200 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ) ( $\mu\text{L}$ )	Agua destilada ( $\mu\text{L}$ )
0	0	1000.0
2.5	12.5	987.5
5.0	25.0	975.0
7.5	37.5	962.5
10.0	50.0	950
12.5	62.5	937.5
25.0	125.0	875.0

Después de calcular la cantidad de ácido cinámico producido, se trabajó con la Ecuación 7.

$$\text{Actividad PAL} = \frac{(\text{Ácido cinámico})(V_t)(FC)}{(V_e)(t)(PM \text{ del ácido cinámico})} \quad (7)$$

donde *Ácido cinámico* es obtenido de los extractos enzimáticos ( $\text{mg.mL}^{-1}$ ),  $V_t$  es el volumen total del ensayo ( $\text{mL}$ ),  $V_e$  es el volumen de extracto ( $\text{mL}$ ),  $t$  es el tiempo de reacción (60 min), PM es el peso molecular del ácido cinámico (148.1586  $\text{g.mol}^{-1}$ ), FC es el factor de conversión de unidades (1000).

Los resultados se expresaron como  $\text{U.g}^{-1}$  de proteína. Una unidad de actividad enzimática se define como la cantidad de enzima (PAL) que produce 1  $\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1}$  de ácido cinámico, bajo las condiciones del ensayo.

Ascorbato peroxidasa (EC. 1.11.1.11): La determinación espectrofotométrica de la actividad de APX se realizó de acuerdo con el método reportado por Li et al., (2004), con modificaciones. La técnica consiste en que APX reduce el peróxido de hidrógeno a agua utilizando ácido ascórbico como sustrato y produce la forma oxidada de ácido monodeshidroascórbico (MDHA). La tasa de oxidación del ascorbato puede ser seguida por la disminución de la absorbancia a 290 nm. Para la obtención de los extractos enzimáticos se mezclaron 0.1 g de hoja macerada y 1  $\text{mL}$  de una disolución amortiguadora de fosfato potásico 50 mM (pH 7.0), ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) 1 mM, polivinilpirrolidona 2% (p/v), glicerol 10% (p/v), y ácido ascórbico (AsA) 1 mM; se homogeneizaron agitando en vórtex durante

2 min. Las soluciones fueron centrifugadas a 11,800 g durante 15 min a 4 °C. Se utilizó el sobrenadante como extracto enzimático crudo, el cual fue almacenado a 4 °C.

Para el ensayo de determinación de la actividad de APX se inició la reacción colocando 30 µL del extracto enzimático y 270 µL de una disolución amortiguadora de fosfato potásico 50 mM, EDTA 0.1 mM,  $H_2O_2$  0.1 mM, AsA 0.5 mM. Se midió la disminución de la absorbancia a 290 nm en el espectrofotómetro UV-Vis a intervalos de 15 s durante 5 min. Se usó como blanco la mezcla de reacción sin  $H_2O_2$  y sin extracto enzimático. La actividad de APX fue calculada mediante la ecuación 8:

$$\text{Actividad APX} = \frac{(Abs \text{ muestra}_f - Abs \text{ muestra}_i - Abs \text{ blanco})(V_t)}{(E)(t)(V_e)(L)} \quad (8)$$

donde  $V_t$  es el Volumen total de reacción (mL),  $V_e$ : Volumen de extracto enzimático (mL),  $t$ : Tiempo de reacción (min),  $E$ : Coeficiente de extinción molar del ascorbato ( $2.8 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ),  $L$ : Longitud del haz de luz (1 cm).

La actividad enzimática de APX se expresó como µmol de ácido ascórbico oxidado  $\text{min}^{-1} \text{ g}^{-1}$  de proteína.

### **c. Determinación del contenido de capsaicina, polifenoles y flavonoides totales**

Obtención de muestras de chile jalapeño liofilizadas: Se cosecharon frutos de chile jalapeño después de 69 días de tratamientos de estrés por sequía. Se obtuvieron extractos acuosos de los frutos a partir de una mezcla de 100 g de material vegetal para cada tratamiento licuados con 100 mL de agua destilada. Se liofilizaron 25 mL de estos extractos, por duplicado.

Obtención de extractos metanólicos: Para la obtención de los extractos, se pesaron 52 mg de muestra de fruto de chile liofilizado en una balanza analítica serie 321 LS (Precisa, Suiza) con 1 mL de metanol al 100% (v/v) (J.T. Baker; Xalostoc, México); la extracción se realizó protegiéndose de la luz. La mezcla se incubó

durante 2 h en un baño de sonicación Branson 1510R-MT Ultrasonic Cleaner (Branson Ultrasonics Corporation, México), con una frecuencia de 42 kHz. Los extractos se centrifugaron a 10,000 rpm durante 15 min a 15°C, en una *Microcentrífuga Velocity 15μ* (Dynamica, Reino Unido).

**Capsaicinoides totales:** Para la cuantificación de capsaicinoides totales, se disolvieron 100  $\mu$ L de cada extracto en 900  $\mu$ L de metanol al 100% y se midió su absorbancia a una longitud de onda ( $\lambda$ ) de 280 nm en un espectrofotómetro UV-vis Halo XB-10 (Dynamica, Reino Unido), en celdas de cuarzo (Cerón-carrillo et al., 2015). Para realizar la curva de calibración se preparó una solución stock de capsaicina con una pureza  $\geq$  95% (Sigma-Aldrich, Canadá) (1 mg.mL<sup>-1</sup>) y a partir de esta se prepararon concentraciones estándar de capsaicina desde 0 hasta 0.1 mg.mL<sup>-1</sup>, para un volumen de 1 mL, como se presenta en el Cuadro 12.

Cuadro 12. Concentraciones de capsaicina utilizadas para realizar la curva de calibración.

Concentración de capsaicina (mg.mL <sup>-1</sup> )	Solución estándar de capsaicina (1 mg.mL <sup>-1</sup> ) ( $\mu$ L)	Cantidad de metanol ( $\mu$ L)
0	0	1000
0.005	10	990
0.01	20	980
0.015	30	970
0.02	40	960
0.025	50	950
0.03	60	940
0.035	70	930
0.04	80	920
0.045	90	910
0.05	100	900
0.1	200	800

**Polifenoles y flavonoides totales:** La cuantificación de polifenoles totales se realizó de acuerdo con Ricardez-Miranda (2021). Se tomaron 200  $\mu$ L de extractos vegetales disueltos en metanol (1:10) y se mezclaron con 1 mL de agua destilada y 100  $\mu$ L del reactivo Fenol Folin-Ciocalteu (Hycel, Jalisco, México), las mezclas para cada muestra fueron homogeneizadas y se adicionaron 200  $\mu$ L de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (15%

p/v). Las mezclas fueron incubadas en oscuridad durante 30 min, tiempo después del cual se midió su absorbancia a  $\lambda_{760\text{nm}}$  en un espectrofotómetro UV-vis Halo XB-10.

Se realizó una curva de calibración con ácido gálico a partir de una solución estándar de 100  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  y haciendo diluciones para obtener concentraciones de 0, 10, 20, 30 y 40  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ , las soluciones estándar recibieron el mismo tratamiento de las muestras. El contenido de polifenoles se expresó como mg equivalentes de ácido gálico (GAE) por g de muestra.

La determinación del contenido de flavonoides totales se realizó por espectrofotometría mediante el método basado en la formación de un complejo flavonoide-aluminio (Menichini et al., 2009). Se utilizaron 0.5 mL de los extractos metanólicos a los cuales se les adicionaron 0.03 mL de nitrito de sodio al 5% (p/v) y 0.06 mL de cloruro de aluminio al 10% (p/v). Después de 6 min de reacción se adicionaron 0.2 mL de NaOH 1 M y 0.21 mL de agua destilada. Se midió la absorbancia de las reacciones a 510 nm. Se realizó una curva de calibración a partir de una solución estándar de quercetina 200  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ , haciendo diluciones con agua destilada para tener concentraciones de 0, 20, 40, 60, 80, 100, y 109.1  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ , cada solución recibió el mismo tratamiento que los extractos. El contenido de flavonoides se expresó como mg equivalentes de quercetina (Q) por gramo de muestra vegetal.

La determinación de polifenoles y quercetina totales se realizó por triplicado para cada extracto y para cada solución en la curva de calibración.

#### **8.2.5. Determinación del efecto del estrés por sequía sobre la expresión de genes chalcona isomerasa**

Se midió la expresión del gen *CHi* (chalcona isomerasa), según Caicedo-Lopez et al. (2021). Se realizó la extracción de ARN de una mezcla de hojas de *C. annuum* para cada tratamiento, mediante el método del reactivo TRIzol (Ambion). La integridad y la concentración del ARN extraído se determinaron por espectrofotometría UV-vis en un Nanodrop 2000 (Thermo-Scientific, USA). A partir del ARN extraído se realizó la síntesis de ADN complementario (ADNc) con el kit de

síntesis Maxima First Strand para RT-qPCR (Thermo Fisher Scientific), siguiendo el protocolo establecido por el fabricante, y se determinó su integridad y concentración. Finalmente, la amplificación de los genes *caPIP1-1* y *Chs* se realizó en un termociclador utilizando ADN polimerasa DreamTaq según el protocolo de PCR suministrado por el proveedor (Thermo Fisher Scientific). Los oligonucleótidos utilizados fueron obtenidos de T4-OLIGO y se presentan en el Cuadro 13. El protocolo seguido para la amplificación de cada gen se muestra en el Cuadro 14. La expresión genética relativa se calculó utilizando el método  $2^{\Delta\Delta CT}$ .

Cuadro 13. Oligonucleótidos utilizados para RT-qPCR de *Capsicum annuum* con tratamientos de sequía.

Gen	Dirección	Secuencia del primer (5' a 3')	Tamaño del fragmento (pb)
<i>CHi</i>	Forward	CGACCCTCAGTCACGAC	154
	Reverse	TGGGCCACGGAAAGTAAGTG	
<i>Actina</i> (referencia)	Forward	ATGTGACGTGGATATTAGGAAAG	
	Reverse	AGGGAAAGCCAAGATAGAGCC	

Cuadro 14. Protocolo de amplificación para *CaPIP1-1* y *Chs* mediante RT-qPCR.

Gen	Condición	Número de ciclos
<i>CHi</i>	95 °C, 10 min	44
	95 °C, 15 s	
	58 °C, 30 s	
	72 °C, 20 s	
	65-95 °C, 5 s	

## 8.2.6. Obtención de modelos matemáticos que estimen y predigan el estrés por sequía en plantas de chile jalapeño

### a. *Estimadores del estrés por sequía*

Se obtuvieron valores acumulados de las respuestas morfológicas (diámetro basal del tallo, peso de la planta y altura de la planta), fisiológicas (fotosíntesis,

transpiración, conductancia estomática e índice de vegetación de diferencia normalizada) y bioquímicas (prolina) de *Capsicum annuum* para cada tratamiento de sequía evaluado.

Se aplicaron regresiones lineales de mínimos cuadrados a los datos acumulados (Currell, 2015), y se obtuvieron valores  $\beta$  de las ecuaciones ( $y = \alpha + \beta t$ ). Los valores  $\beta$  se consideraron como estimadores de estrés por sequía mediante el método de estimación por intervalos. Se utilizó la prueba normal de Shapiro-Wilk para evaluar la distribución normal de los datos y se utilizó un análisis de varianza residual para determinar la distribución aleatoria (Ramachandran & Tsokos, 2021).

#### **b. Análisis de componentes principales**

Se obtuvo un análisis de componentes principales (PCA) tridimensional para los valores de las respuestas morfológicas (diámetro basal del tallo, altura y peso de la planta), fisiológicas (fotosíntesis, transpiración, conductancia estomática, déficit de presión de vapor e índice de vegetación de diferencia normalizada) y bioquímicas (contenido de prolina y actividad enzimática de SOD, PAL y APX) de las plantas de chile jalapeño tratadas bajo condiciones de sequía, donde los ejes x, y, z son los componentes 1, 2 y 3 respectivamente. Se obtuvo un PCA para los días de tratamiento 24, 42 y 57 para representar tres etapas fenológicas importantes (vegetativa, floración y fructificación). Los datos se analizaron en JMP v. 13 y el programa RStudio.

#### **8.2.7. Análisis estadísticos**

La evaluación del efecto de las condiciones de sequía evaluadas sobre las respuestas morfológicas, fisiológicas, bioquímicas y moleculares se realizó mediante un análisis de varianza (ANOVA) con niveles de confianza de 0.80, 0.85, 0.9, y 0.95. Las diferencias entre tratamientos se determinaron mediante la prueba de comparación de medias de Tukey con  $\alpha$  de 0.05-0.1. Los datos se analizaron utilizando JMP v. 13 (SAS Institute Inc., Carolina del Norte, U.S.A.) y el programa RStudio.

### 8.3. Estrés por salinidad

#### 8.3.1. Establecimiento del diseño experimental

Se estableció un diseño unifactorial donde se evaluó la aplicación de NaCl con tres niveles (50, 75, y 100 mM), y teniendo como control la aplicación de agua potable; las características físicoquímicas de las soluciones evaluadas se muestran en el Cuadro 15.

Los tratamientos de estrés salino se indujeron en plantas de chile jalapeño 32 días después de su trasplante (4-6 hojas verdaderas), aplicando 100 mL de cada solución de NaCl cada semana durante un ciclo productivo del cultivo de chile jalapeño (71 días). Las fechas de aplicación de los tratamientos se presenta en el Cuadro 16.

Los tratamientos se aplicaron en un diseño completamente al azar, con 18 plantas por tratamiento para el control, NaCl 50 y 75 mM, mientras que para el tratamiento con NaCl 100 mM se tuvieron 9 plantas.

Cuadro 15. Características de las soluciones de NaCl y control.

Tratamiento	Conductividad eléctrica (CE)	Sólidos totales disueltos (ppt)	pH
Control	0.55±0.02	0.27±0.01	6.22±0.2
NaCl 50 mM	6.53±0.23	3.26±0.11	6.09±0.09
NaCl 75 mM	8.9±0.28	4.45±0.14	5.93±0.11
NaCl 100 mM	10.93±0.37	5.46±0.18	5.85±0.4

Cuadro 16. Fechas de aplicación de los tratamientos con NaCl.

Tratamiento	Semana										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Control	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
NaCl 50 mM	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
NaCl 75 mM	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
NaCl 100 mM	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓

Todas las plantas fueron regadas diariamente con una solución Steiner al 100%, (CE: 2.5 y pH: 6.5), suministrada en 10 riegos, dos min por riego, para un total de un L.día<sup>-1</sup>.

### **8.3.2. Determinación de las respuestas morfo-fisiológicas al estrés por salinidad en plantas de chile jalapeño**

#### *a. Propiedades morfológicas*

Desde el inicio de los tratamientos y durante 11 semanas se monitorearon variables morfológicas: altura de la planta, diámetro basal del tallo, número de flores y frutos, siguiendo la metodología descrita en la sección 7.2.3. inciso a, para todas las plantas tratadas. Las determinaciones se realizaron semanalmente.

#### *b. Propiedades fisiológicas*

Se monitorearon semanalmente las variables fotosíntesis, transpiración, conductancia estomática, y déficit de presión de vapor utilizando un fitomonitor basado en FPGA. Las mediciones se realizaron al azar para 4 plantas por tratamiento, cada día de monitoreo. También se calculó el valor de NDVI a partir de imágenes tomadas semanalmente al dosel de todas las plantas. Lo anterior, de acuerdo con la metodología descrita en la sección 8.2.3. inciso b.

### **8.3.3. Determinación del efecto del estrés por salinidad sobre variables bioquímicas en plantas de chile jalapeño**

Se muestrearon hojas del área apical de todas las plantas tratadas (una hoja por planta) para los días de tratamiento 0, 14, 28, 32, 47, 61, y 74. Las muestras se congelaron con nitrógeno líquido y se almacenaron en ultracongelación a -42°C. Se realizó una mezcla de las hojas por tratamiento y se determinó el contenido de prolina y la actividad de las enzimas CAT, SOD, PAL, y APX. En el caso de los frutos, estos se cosecharon en la semana 12 después de iniciados los tratamientos, se liofilizaron y se determinó su contenido de capsaicinoides, fenoles y flavonoides totales.

**a. Determinación del contenido de prolina**

Se determinó la concentración de prolina en las muestras de hojas conservadas en ultracongelación con base en la metodología descrita en la sección 7.2.3, inciso a. Los extractos de prolina se obtuvieron con 200 mg de muestra vegetal y 1 mL de ácido sulfosalicílico (1%), por duplicado. Para la prueba de cuantificación de prolina se mezclaron 45  $\mu$ L de cada extracto, 255  $\mu$ L de ácido sulfosalicílico, y 600  $\mu$ L de ninhidrina (1.25%), y se incubaron en un baño térmico a 90°C durante 1 h y posteriormente se enfriaron en el congelador 10 min. Se adicionaron 300  $\mu$ L de cada muestra en un pozo de una microplaca de 96 pozos y se midió la absorbancia a 510 nm. La determinación se realizó por duplicado para cada extracto. La cantidad de prolina se calculó utilizando la Ecuación 9 (Anexo 1.a). El contenido de prolina se expresó como mg de prolina por gramo de hoja fresca.

$$y = 0.0312x + 0.0402 \quad (9)$$

**b. Determinación de la actividad enzimática**

Extractos enzimáticos: Se obtuvieron extractos enzimáticos a partir de 200 mg de muestras de hojas frescas homogenizadas y congeladas usando 1 mL de una disolución amortiguadora de fosfato de potasio 50 mM (pH 7.8). Cada mezcla se agitó en vórtex durante 2 min y se centrifugó a 12,000 rpm durante 15 min a 4°C. El sobrenadante se separó del sedimento y se almacenó a 4 °C, protegiéndose de la luz. Los extractos fueron obtenidos por triplicado y utilizados para la determinación del contenido de proteína y la actividad de CAT, SOD, PAL, y POD.

Determinación de proteína: La cuantificación del contenido de proteína se realizó usando el método de Bradford por espectrofotometría adaptado a microplaca de 96 pozos. Se mezclaron en cada pozo de una microplaca de poliestireno 10  $\mu$ L de extracto enzimático y 190  $\mu$ L del reactivo de Bradford, y se incubó durante 20 min a temperatura ambiente. Posteriormente, se midió la absorbancia de cada reacción a  $\lambda_{595\text{nm}}$  en un espectrofotómetro Multiskan SkyHigh Thermo Scientific.

Cada reacción se llevó a cabo por triplicado y se midió la absorbancia de cada una tres veces. Se realizó una curva de calibración con albúmina de suero bovino

como estándar a concentraciones de 0, 25, 50, 75, 125, 150 y 200 ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ), realizada bajo las mismas condiciones en las que se procesaron los extractos.

Catalasa (E.C. 1.11.1.6): Se realizó la determinación de la actividad enzimática de CAT siguiendo el método reportado Hadwan (2018), el cual se basa en un cambio de oxidación del cobalto II a cobalto III por acción del peróxido de hidrógeno en presencia de una solución de bicarbonato de sodio, donde la disociación del  $\text{H}_2\text{O}_2$  es proporcional a la actividad de CAT presente en la muestra analizada. Se preparó una solución de trabajo que contenía 10 mL de una solución de cobalto II (20.3 mg de  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O} \cdot \text{mL}^{-1}$  de agua destilada), 10 mL de una solución de hexametafosfato de sodio (10 mg de  $(\text{NaPO}_3)_6 \cdot \text{mL}^{-1}$  de agua destilada), y 180 mL de bicarbonato de sodio (90 mg de  $\text{NaHCO}_3 \cdot \text{mL}^{-1}$  de agua destilada). Las soluciones se adicionaron en el orden en que se presentan. También se preparó una solución de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (10 mM) en una solución amortiguadora de fosfatos (50 mM, pH 7.0). Las etapas del método seguidas para determinar la actividad de CAT se presentan en el Cuadro 17.

Cuadro 17. Reactivos y metodología seguida para la determinación de la actividad de CAT en hojas de chile jalapeño sometidas a tratamientos salinos.

Etapa	Reactivos	Prueba	Estándar	Blanco
1	Extracto enzimático diluido (1:5 en solución amortiguadora de fosfatos 50 mM, pH 7.0)	30 $\mu\text{L}$	0	0
	Agua destilada	0	30 $\mu\text{L}$	90 $\mu\text{L}$
	$\text{H}_2\text{O}_2$	60 $\mu\text{L}$	60 $\mu\text{L}$	0
Los reactivos fueron adicionados en microtubos, mezclados en vórtex, e incubados a 37°C durante 2 min.				
2	<b>Solución de trabajo</b>	<b>360 <math>\mu\text{L}</math></b>	<b>360 <math>\mu\text{L}</math></b>	<b>360 <math>\mu\text{L}</math></b>
	Tras la adición de la solución de trabajo a los microtubos, estos se mezclaron en vórtex por 5 s y se incubaron a temperatura ambiente durante 10 min en la oscuridad.			

Se tomaron 300  $\mu\text{L}$  de cada tubo y se pusieron en pozos de una microplaca. Se registró la absorbancia a  $\lambda_{640 \text{ nm}}$  y se utilizó la Ecuación 10.

$$\text{Actividad de CAT (kU)} = \frac{2.303}{t} \log \frac{S^0}{S} (10)$$

donde t es el tiempo de reacción (10 min),  $S^0$  es la absorbancia de la solución estándar, S es la absorbancia de la solución de la muestra con la enzima.

Superóxido dismutasa (EC.1.15.1.1): La actividad de SOD se determinó por el método de inhibición de la reducción de nitroazul de tetrazolio (NBT), siguiendo la

metodología descrita en la sección 7.2.3, inciso b. La actividad de SOD se expresó como U por g de proteína, donde una U se define como la cantidad de enzima (SOD) que inhibe el 50% de la reducción de NBT por superóxido generados, bajo las condiciones experimentales. La determinación de la actividad de SOD se realizó mediante las ecuaciones 4 y 5.

Peroxidasa (EC 1.11.1.7): La actividad de POD en los extractos enzimáticos se determinó por espectrofotometría ( $\lambda_{470nm}$ ) usando guayacol como sustrato y  $H_2O_2$  como donante de hidrógeno. El ensayo consistió en adicionar 280  $\mu L$  de la disolución amortiguadora de extracción (fósfato potásico 50 mM, pH 6.5) en pozos de una microplaca de poliestireno transparente de 96 pozos, seguido de la adición de 4.6  $\mu L$  de guayacol 20 mM, 9.2  $\mu L$  de peróxido de hidrógeno 25 mM y 2.0  $\mu L$  del extracto enzimático. Se agitó y se midió la absorbancia ( $\lambda_{470nm}$ ) en el espectrofotómetro Thermo Scientific™ Multiskan™ FC, durante un periodo de 35 min tomando un registro de la absorbancia cada 60 s. La lectura de la reacción comenzó cuando la absorbancia de la reacción fue de 0.05-0.07 y se detuvo cuando alcanzó una absorbancia de 0.1-0.12. La actividad enzimática fue determinada por el nivel de producción de tetraguayacol mediante la Ecuación 6. Los resultados se expresaron en  $U.g^{-1}$  de proteína.

Fenilalanina Amonio Liasa (E.C. 4.3.1.5): La actividad de PAL se determinó por espectrofotometría ( $\lambda_{290nm}$ ) por la cuantificación del ácido cinámico formado a partir de la catálisis de L-fenilalanina. Este ensayo se realizó de acuerdo con la metodología descrita en la sección 7.2.3, inciso b. Se realizó una curva de calibración a partir de una solución estándar de ácido cinámico ( $200 \mu g.mL^{-1}$ ), con concentraciones de 0-200  $\mu g.mL^{-1}$  (Cuadro 18).

Cuadro 18. Concentraciones y reactivos para realizar la curva de calibración de ácido cinámico.

Concentración de ácido cinámico ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ )	Solución estándar de ácido cinámico (200 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ) ( $\mu\text{L}$ )	Agua destilada ( $\mu\text{L}$ )
0	0	1000
5	25	975
10	50	950
15	75	925
20	100	900
25	125	875
50	250	750
100	500	500
200	1000	0

La actividad de PAL se calculó mediante la Ecuación 7. Los resultados se expresaron como  $\text{U.g}^{-1}$  de proteína. Una unidad de actividad enzimática se define como la cantidad de enzima (PAL) que produce 1  $\mu\text{mol}.\text{min}^{-1}$  de ácido cinámico, bajo las condiciones del ensayo.

Ascorbato peroxidasa (EC. 1.11.1.11): La determinación espectrofotométrica de la actividad de APX ( $\lambda_{290\text{nm}}$ ) se realizó siguiendo la metodología reportada en la sección 7.2.3., sección b. Para la obtención de los extractos enzimáticos se mezclaron 0.2 g de hoja macerada con nitrógeno líquido y 1 mL de una disolución amortiguadora de fosfato potásico 50 mM (pH 7.0), ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) 1 mM, polivinilpirrolidona 2% (p/v), glicerol 10% (p/v), y ácido ascórbico (AsA) 1 mM; se homogeneizaron agitando en vórtex durante 2 min. Las soluciones fueron centrifugadas a 12,000 rpm durante 15 min a 4 °C. Se utilizó el sobrenadante como extracto enzimático crudo, el cual fue almacenado a 4 °C. Para el ensayo de determinación de la actividad de APX se inició la reacción colocando 30  $\mu\text{L}$  del extracto enzimático y 270  $\mu\text{L}$  de una disolución amortiguadora de fosfato potásico 50 mM (pH 7.0), EDTA 0.1 mM,  $\text{H}_2\text{O}_2$  0.1 mM, AsA 0.5 mM. Se midió la disminución de la absorbancia a 290 nm en el espectrofotómetro UV-Vis a intervalos de 30 s durante 5 min. Se usó como blanco la mezcla de reacción sin  $\text{H}_2\text{O}_2$  y sin extracto enzimático. La actividad de APX se determinó de acuerdo con la Ecuación 8, y se expresó como  $\mu\text{mol}$  de ácido ascórbico oxidado  $\text{min}^{-1} \text{g}^{-1}$  de proteína.

**c. Determinación del contenido de capsaicinoides, polifenoles y flavonoides totales**

Obtención de muestras de chile jalapeño liofilizadas: Se cosecharon frutos de chile jalapeño después de 69 días de tratamientos de estrés por sequía. Se obtuvieron extractos acuosos de los frutos a partir de una mezcla de 100 g de material vegetal para cada tratamiento licuados con 100 mL de agua destilada. Se liofilizaron 25 mL de estos extractos, por duplicado, para lo cual se utilizó un liofilizador ECO-FD10PT.

Obtención de extractos metanólicos: Para la obtención de los extractos, se pesaron 52 mg de muestra de fruto de chile liofilizado y se mezclaron con 1 mL de metanol; la extracción se realizó protegiéndose de la luz. La mezcla se mantuvo durante 2 h en un baño de sonicación Branson 1510R-MT Ultrasonic Cleaner (Branson Ultrasonics Corporation, México), con una frecuencia de 42 kHz. Los extractos se centrifugaron a 10,000 rpm durante 15 min a 15°C. El sobrenadante fue utilizado para la determinación de capsaicinoides, polifenoles y flavonoides totales. Los extractos metanólicos se obtuvieron por duplicado para cada tratamiento.

Capsaicinoides totales: La metodología para la cuantificación del contenido de capsaicinoides totales se adaptó a microplaca; en cada micropozo se adicionaron 10 µL de extracto y 290 µL de metanol y se midió su absorbancia a  $\lambda$ 280 nm en un espectrofotómetro Multiskan SkyHigh Thermo Scientific. Se obtuvo una curva de calibración a partir de una solución estándar de capsaicina con una pureza  $\geq$  95% (Sigma-Aldrich, Canadá) (1 mg.mL<sup>-1</sup>), a partir de esta solución se realizaron diluciones con metanol para alcanzar concentraciones de 0.005, 0.010, 0.015, 0.020, 0.025, 0.030, 0.035, 0.040, 0.045, 0.050, y 0.010 mg.mL<sup>-1</sup>. La determinación se realizó por triplicado para cada extracto y la absorbancia de cada muestra se midió dos veces. El contenido de capsaicinoides totales se presentó como mg de capsaicina equivalente por g de muestra seca.

Polifenoles y flavonoides totales: La metodología para la cuantificación del contenido de polifenoles y flavonoides totales se adaptó a microplaca. Para la

determinación de polifenoles totales se tomaron 200  $\mu\text{L}$  de extractos vegetales disueltos en metanol (1:10) y se mezclaron con 1 mL de agua destilada y 100  $\mu\text{L}$  del reactivo Fenol Folin-Ciocalteu (Hycel, Jalisco, México), las mezclas para cada muestra fueron homogeneizadas y se adicionaron 200  $\mu\text{L}$  de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (15% p/v). Las mezclas fueron incubadas en oscuridad durante 30 min, tiempo después del cual se midió su absorbancia a  $\lambda_{760\text{nm}}$  en un espectrofotómetro UV-vis. Se realizó una curva de calibración con ácido gálico a partir de una solución stock de 1  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  y haciendo diluciones para obtener concentraciones de 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8 y 0.9  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ , las soluciones estándar recibieron el mismo tratamiento de las muestras. El contenido de polifenoles se expresó como mg equivalentes de ácido gálico (GAE)  $\text{g}^{-1}$  de fruto seco.

Para la determinación de flavonoides totales, se colocaron 180  $\mu\text{L}$  de agua destilada y 50  $\mu\text{L}$  de los extractos enzimáticos, y en un lugar protegido de la luz se adicionaron 20  $\mu\text{L}$  de una solución de 2-amino-etil-difenil-borato al 1% en metanol. Inmediatamente se midieron las absorbancias de las muestras a 404 nm. Para determinar la concentración de flavonoides totales se realizó una curva de calibración a partir de una solución estándar de quercetina de 1  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ , y haciendo diluciones con metanol para obtener concentraciones de 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ . El contenido de flavonoides se expresó como mg equivalentes de quercetina (Q)  $\text{g}^{-1}$  de fruto seco.

## IX. Resultados y discusión

A continuación, se describen y discuten los resultados obtenidos a partir de la evaluación del efecto de condiciones de estrés por sequía y por salinidad en plantas de chile jalapeño crecidas bajo condiciones de invernadero.

### 9.1. Estrés por sequía

#### 9.1.1 Determinación de las respuestas morfo-fisiológicas al estrés por sequía en plantas de chile jalapeño

##### a. *Respuestas morfológicas*

En esta investigación, se evaluó el crecimiento de *C. annuum* frente a condiciones de sequía severa, moderada, ligera y sin sequía (40, 60, 80 y 100% CC) a través del monitoreo de la altura de la planta, el diámetro del tallo, número de hojas, número de flores y frutos durante 69 días de exposición a los tratamientos.

En general, la Figura 5 muestra que la altura de la planta varió significativamente durante el tiempo de monitoreo para los tratamientos evaluados. Se observa que no hay diferencias significativas ( $p>0.05$ ) en la altura de la planta entre las condiciones de sequía evaluadas y el grupo control durante los primeros 21 días de exposición a los tratamientos. Durante los días de tratamientos 24 a 48, se muestran diferencias significativas ( $p<0.05$ ) entre la altura de la planta para sequía severa en comparación con las plantas bien irrigadas; mientras que la sequía moderada y ligera presentan el mismo efecto que el control. Sin embargo, después del día 48 de exposición a la sequía, los tratamientos presentan el mismo efecto sobre la altura de las plantas que el control ( $p>0.05$ ).

En la Figura 6 se muestra la variación del diámetro del tallo durante 69 días de exposición de *C. annuum* a condiciones de sequía. No se observan diferencias significativas ( $p>0.05$ ) entre el efecto de los tratamientos de sequía para los días de monitoreo 0, 6, 9 y 15. En general, durante todo el tiempo de monitoreo y especialmente desde el día 21 no se observan diferencias estadísticamente

significativas ( $p>0.05$ ) entre el efecto de la sequía ligera y el control, ni entre la sequía moderada y severa para ninguno de los días evaluados.

Durante el tiempo monitoreado, independientemente de los tratamientos evaluados, tanto la altura del tallo como el diámetro de tallo aumentaron, esto producto del proceso de elongación natural durante su etapa de crecimiento (Niemczyk et al., 2023). Se observó un crecimiento similar en las plantas sometidas a estrés hídrico severo y moderado (40 y 60% CC), presentando la menor altura y el menor diámetro del tallo. El estrés hídrico ligero (80% CC) promovió una mayor elongación de las plantas, en comparación con el grupo control y los demás tratamientos de sequía; además, este tratamiento provocó un mayor diámetro del tallo.

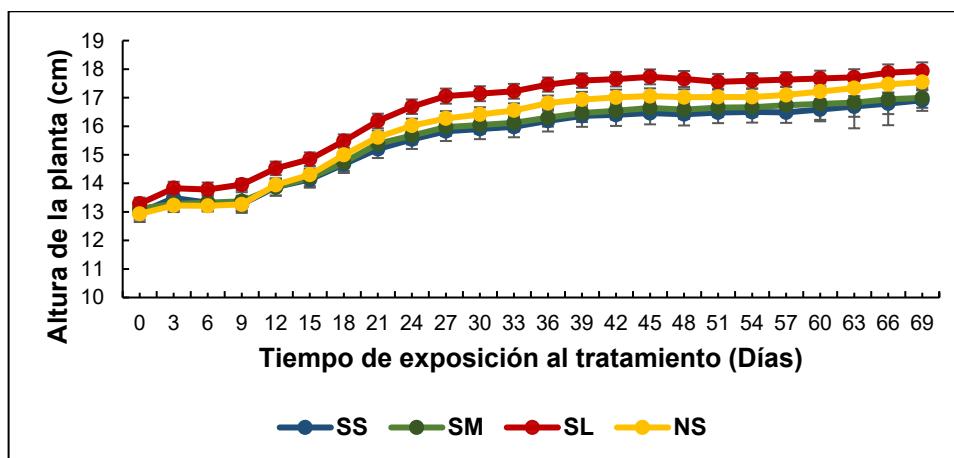


Figura 5. Altura de *C. annuum* bajo diversas condiciones de sequía. SS: sequía severa (40% CC); SM: sequía moderada (60% CC); SL: sequía ligera (80% CC); NS: sin sequía (100% CC). Los resultados se expresan como la media  $\pm$  el error estándar ( $n=20$ ),  $\alpha=0.05$ .

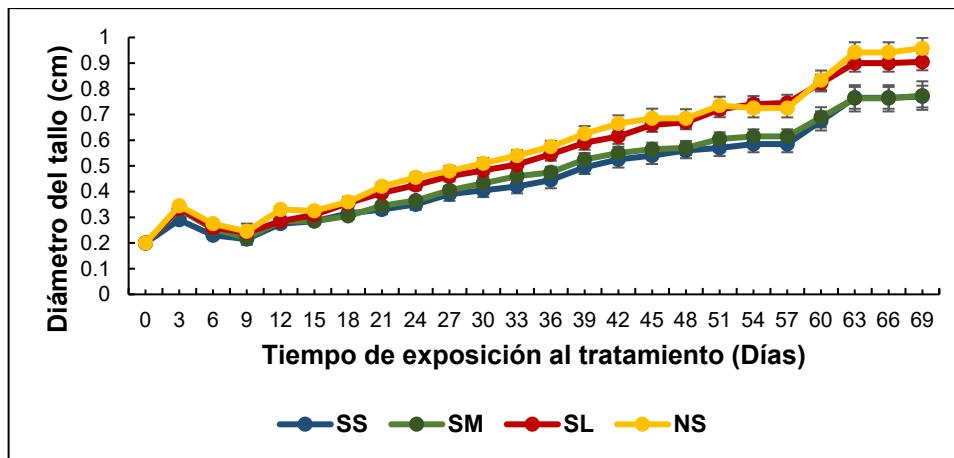


Figura 6. Diámetro del tallo de *C. annuum* bajo diversas condiciones de sequía. SS: sequía severa (40% CC); SM: sequía moderada (60% CC); SL: sequía ligera (80% CC); NS: sin sequía (100% CC). Los resultados se expresan como la media  $\pm$  el error estándar ( $n=20$ ),  $\alpha=0.05$ .

En general, durante el tiempo de exposición al estrés por sequía se observó un menor número de hojas, flores y frutos (Figuras 7, 8 y 9, respectivamente) para los tratamientos de sequía moderado y severo (60 y 40% CC), en comparación con el grupo control (100% CC) y la condición de riego ligero (80% CC).

El número de hojas tuvo un comportamiento similar para el tratamiento a 80% CC y el control, mientras que los tratamientos a 40 y 60% CC provocaron la disminución de esta variable (Figura 7). Durante los primeros 24 días de tratamiento no se observan diferencias estadísticas ( $p>0.05$ ) entre las condiciones de sequía evaluadas. Entre los días 27 y 57 de exposición a los tratamientos, se presentan diferencias estadísticas significativas ( $p<0.05$ ) entre la cantidad de hojas respecto a la condición de sequía, observándose principalmente diferencias entre las plantas con sequía severa y las bien irrigadas ( $\alpha=0.1$  para días 27-39 y  $\alpha=0.05$  para días 42-57). Durante este periodo, la cantidad de hojas para la sequía ligera se comportó de manera similar que en el grupo control. A partir del día 60 de tratamiento, no se evidencian diferencias significativas ( $p>0.05$ ).

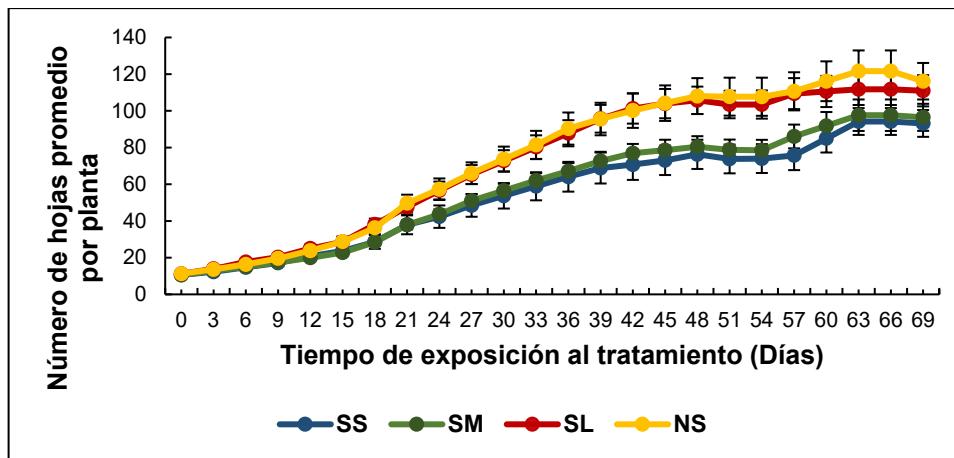


Figura 7. Número de hojas de *C. annuum* bajo las diferentes condiciones de sequía. SS: sequía severa (40% CC); SM: sequía moderada (60% CC); SL: sequía ligera (80% CC); NS: sin sequía (100% CC). Los resultados se expresan como la media  $\pm$  el error estándar ( $n=20$ ),  $\alpha=0.05$ .

En la Figura 8 se observa la cantidad de flores cuantificadas para las plantas de *C. annuum* sometidas a sequía. La primera flor tuvo inicio a partir del día 24 para las plantas tratadas con 80 y 100% CC, mientras que para las plantas tratadas con las condiciones más severas de sequía comenzó hasta el día 27 de tratamiento. Se observó una tendencia a la reducción del número de flores en las plantas tratadas con 40 y 60% CC durante todo el tiempo de monitoreo en comparación con las plantas bien irrigadas. El número de flores para las plantas tratadas al 80% CC se mantuvo similar al grupo control hasta el día 54 de tratamiento, después de este tiempo la cantidad de flores disminuyó. Durante el inicio de la etapa de floración no se observan diferencias significativas en el número de flores para los tratamientos evaluados ( $p>0.05$ ), salvo para los días de tratamiento 39, 45, 51, 63, 66, y 69 ( $p<0.05$ ). La sequía severa y la sequía moderada fueron estadísticamente diferentes al control y a la sequía ligera para los días 63 y 66 ( $\alpha=0.05$ ), mientras que para los días 45, 51 y 66; únicamente la sequía severa mostró diferencias significativas frente al grupo control ( $\alpha=0.1$  para el día 51 y  $\alpha=0.05$  para los días 45 y 66).

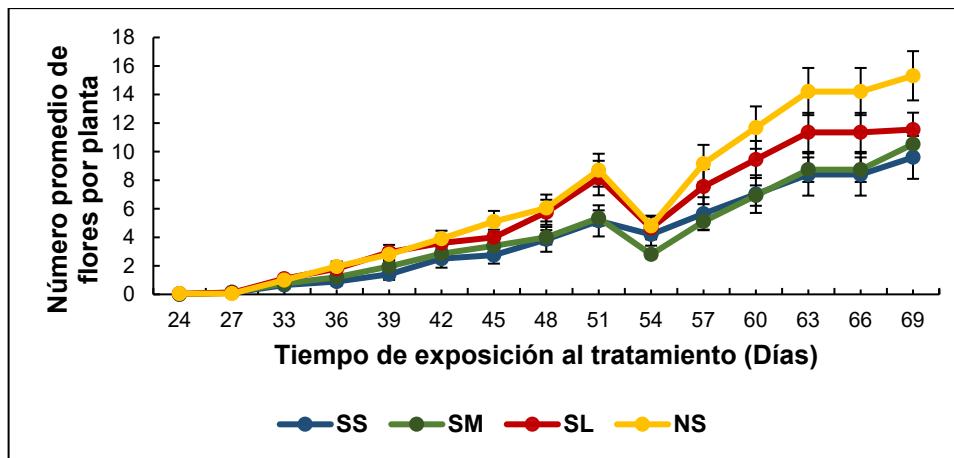


Figura 8. Número de flores en plantas de *C. annuum* bajo las diferentes condiciones de sequía. SS: sequía severa (40% CC); SM: sequía moderada (60% CC); SL: sequía ligera (80% CC); NS: sin sequía (100% CC). Los resultados se expresan como la media  $\pm$  el error estándar ( $n=20$ ,  $\alpha=0.05$ ).

La Figura 9 muestra el número de frutos de chile producidos durante la exposición de *C. annuum* a las diferentes condiciones de sequía, donde se observa un menor número de frutos ante un aumento en la severidad de la sequía, lo cual se hace más evidente entre los días 57 y 69 de exposición a los tratamientos.

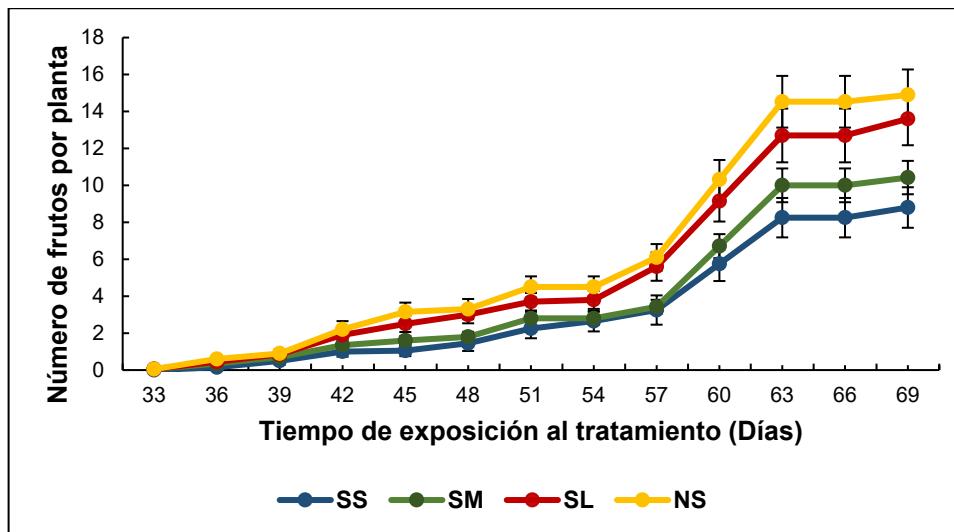


Figura 9. Número de frutos en plantas de *C. annuum* bajo las diferentes condiciones de sequía. SS: sequía severa (40% CC); SM: sequía moderada (60% CC); SL: sequía ligera (80% CC); NS: sin sequía (100% CC). Los resultados se expresan como la media  $\pm$  el error estándar,  $\alpha=0.05$ .

De acuerdo con los resultados obtenidos al finalizar un ciclo fenológico de plantas de chile jalapeño (*C. annuum* L. var. M.), el estrés por sequía afectó negativamente las variables fisiológicas estudiadas (Figura 10), provocando una menor altura de la

planta y diámetro del tallo (Figura 10, a-b), además de la disminución en el número de hojas y número de flores (Figura 10, c y d). Las plantas de chile jalapeño mostraron una mayor sensibilidad a las condiciones de sequía severa y moderada (40 y 60% CC), al reducir significativamente el diámetro del tallo en un 19.61% y 19.23% ( $\alpha=0.01$ ;  $p\leq0.028$ ), el número de hojas en un 19.81% ( $\alpha=0.1$ ,  $p=0.07$ ) y 16.94% ( $\alpha=0.2$ ,  $p=0.12$ ), y el número de flores en un 37.32% y 31.40% ( $\alpha=0.05$ ;  $p\leq0.024$ ), respectivamente, en comparación con 100% CC. La exposición a 80% CC no afectó significativamente la altura de la planta ( $p=0.36$ ), el diámetro del tallo ( $p=0.32$ ), ni el número de hojas ( $p=0.69$ ), sin embargo, redujo de manera significativa el número de flores en comparación con 100% CC ( $\alpha=0.1$ ,  $p=0.089$ ).

En concordancia con los resultados obtenidos, Wassie et al., (2023) reportaron un comportamiento similar para la altura de plantas de pimiento rojo expuestas durante 40 días a déficit hídrico con 40, 60, y 80% CC, mostrándose un efecto negativo de la sequía moderada y severa sobre el crecimiento vegetal. De manera semejante, Kabir et al., (2021) observaron que el aumento en la severidad de los tratamientos de sequía provocó una disminución de la altura y diámetro del tallo en plantas de pimiento morrón, siendo los riegos al 33 y 67% los que provocaron un efecto negativo estadísticamente diferente al grupo control. También, Lestari et al., (2023) indicaron la reducción de la altura de plantas de chile (*Capsicum annuum* L.) ante la exposición a 35 y 50% CC, siendo la condición más severa la que indujo a un menor crecimiento. Por su parte, Macias-Bobadilla et al., (2020) también reportaron una influencia negativa del estrés por sequía en *C. annuum* sobre estas variables.

La altura de la planta o del dosel es un importante fenotipo morfológico que indica de manera directa el crecimiento de la planta, cuya medición permite predecir la biomasa y rendimiento de la misma (Wang et al., 2018). Por su parte, el diámetro del tallo es una de las variables más comunes que se miden para evaluar el crecimiento de las plantas (Paul et al., 2017). Durante la exposición a sequía, tanto la altura como el diámetro del tallo de las plantas se ven afectados (Wach & Skowron, 2022). Bajo condiciones de sequía, algunos autores han observado disminución de la altura y del diámetro del tallo en plantas de okra (Torun et al.,

2023), tomate (Turan et al., 2023), pimiento de cayena (Lathifah & Siswanti, 2022), y chile jalapeño (Macias-Bobadilla et al., 2020). La disminución de la altura de la planta y del diámetro del tallo se puede deber a una menor expansión celular, al aumento de la senescencia de las hojas y al deterioro de la mitosis durante la exposición a déficit hídrico (Yang et al., 2021).

La sequía es uno de los factores de estrés abiótico que provocan los efectos más adversos sobre la morfología de las plantas, como es el caso del número y tamaño de las hojas (Wach & Skowron, 2022). Las hojas de las plantas son los órganos más importantes debido a que son responsables del mantenimiento de los procesos fisiológicos vitales como la fotosíntesis y la transpiración, además de tener un papel destacado en el transporte de nutrientes y agua; por lo que se les considera como un indicador de deficiencia hídrica (Yavas et al., 2024). En relación con los resultados obtenidos para esta variable, Lestari et al., (2023) también reportaron un menor número de hojas en plantas de *C. annuum* frente a una condición de sequía severa (35% CC) y moderada (50% CC), siendo el 33% CC el tratamiento que indujo el menor número de hojas. De igual manera, Macias-Bobadilla et al., (2020) reportaron la disminución del número de hojas frente a diferentes condiciones de sequía. Por su parte, Widuri et al., (2020) también reportaron un efecto negativo de la sequía (potencial hídrico del suelo de -30 a -40 kPa) sobre variables como el número de hojas en *C. annuum* L, indicando que su disminución puede atribuirse a que hubo menor cantidad de hojas nuevas desarrolladas que de hojas viejas caídas. En cuanto al número de flores, Trejo-Paniagua et al., (2024) observaron que la suspensión del riego de plantas de *C. frutescens* durante 15 días provocó un menor número de botones florales en comparación con plantas bien irrigadas.

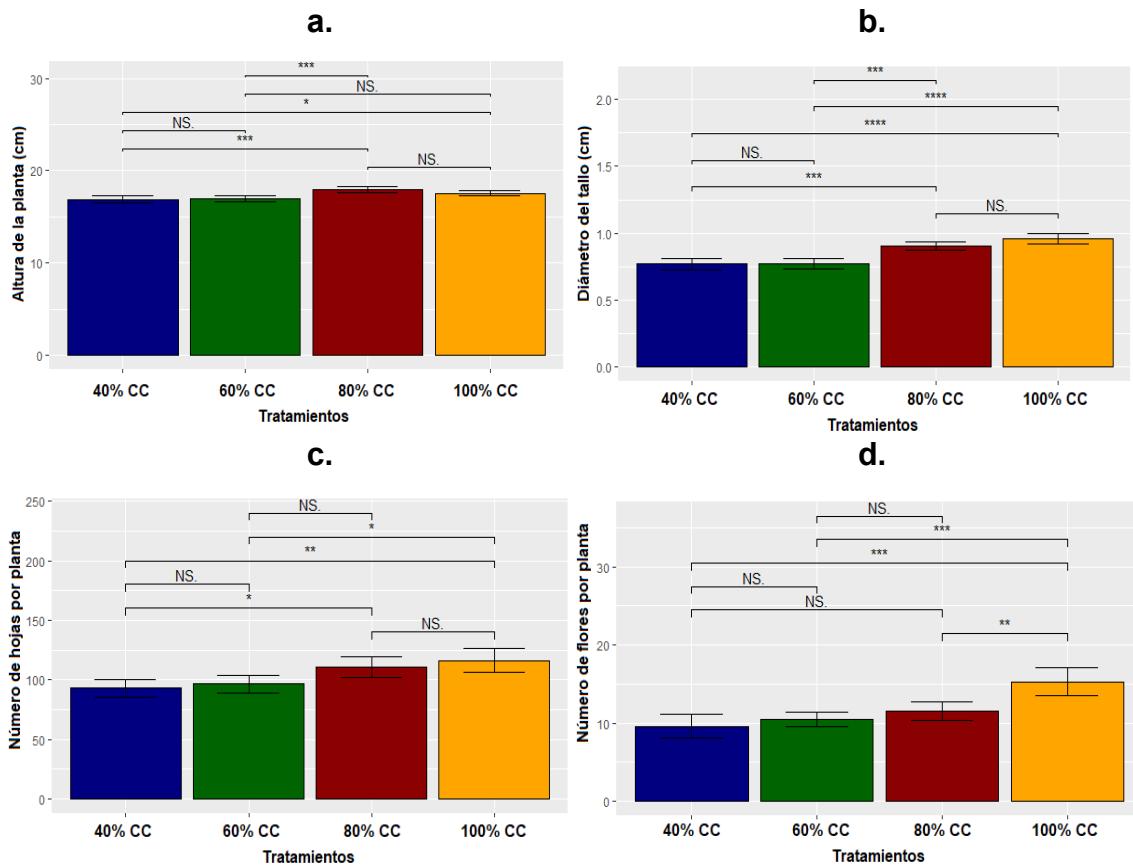


Figura 10. Respuestas morfológicas de plantas de chile jalapeño frente al estrés por sequía. Los resultados se expresan como la media  $\pm$  el error estándar. Nivel de significancia ( $\alpha$ ) \*\*\*\*=0.01, \*\*\*=0.05, \*\*=0.10, \*=0.2, NS=No significativo.

Se determinó el efecto de las condiciones de estrés por sequía sobre el número y la masa de frutos de chile jalapeño, así como el diámetro ecuatorial y polar de los frutos. De manera general, se encontró que las variables evaluadas se vieron negativamente afectadas, provocando una mayor reducción a mayor severidad del estrés (Figura 11). Los tratamientos con 40 y 60% CC presentaron un efecto estadísticamente diferente al control (100%), induciendo la disminución del número de frutos en un 37.81% ( $\alpha=0.01$ ;  $p=0.0019$ ) y 30.04% ( $\alpha=0.05$ ;  $p=0.013$ ), y de la masa de los frutos en 56.55% ( $\alpha=0.01$ ;  $p=0.0043$ ) y 40.69% ( $\alpha=0.05$ ;  $p=0.025$ ), respectivamente (Figura 11, a y b). En cuanto al tamaño de los chiles, solamente el tratamiento de 40% CC tuvo un efecto estadísticamente significativo sobre los diámetros ecuatorial ( $\alpha=0.1$ ;  $p=0.051$ ) y polar ( $\alpha=0.2$ ;  $p=0.012$ ), los demás tratamientos fueron estadísticamente iguales al control ( $p \geq 0.51$ ) (Figura 11, c y d).

La exposición de las plantas de chile frente a 80% CC resultó tener el mismo efecto que 100% CC sobre el rendimiento y el tamaño de los frutos ( $p \geq 0.45$ ).

De acuerdo con los resultados obtenidos, las plantas de chile jalapeño son sensibles al estrés por sequía, sobre todo ante una mayor severidad de sequía (40 y 60% CC), ya que estas condiciones afectaron la productividad del cultivo. De manera similar, Mardani et al., (2017) obtuvieron un menor número de frutos y una menor masa de los frutos ante el aumento de la severidad de los tratamientos de sequía, donde 40 y 60% CC provocaron la mayor disminución con respecto al control, lo que se vio reflejado en pérdidas del 57.2 al 69.5% para estos tratamientos. También, Ichwan et al. (2017) determinaron una mayor disminución en el número y masa de frutos de diferentes variedades de chile rojo (*C. annuum* L.) con el tratamiento más severo de sequía evaluado (50% CC), alcanzando el 29.50% de reducción de la cantidad de frutos con respecto al control, valor similar al obtenido en esta investigación al regar a 60% CC; con respecto a la masa de los frutos, observaron la disminución del 31.75% con 50% CC, dicho valor se encuentra por debajo de los obtenidos en este trabajo para los tratamientos del 40 y 60% CC mencionados previamente.

Por su parte, Macias-Bobadilla et al. (2020) y Mahmood et al. (2021), reportaron la reducción del número y masa de frutos de *C. annuum* L. bajo diferentes condiciones de estrés, al igual que Zamljen et al. (2020) en esta especie y en *Capsicum chinense* Jacq. Por su parte, Yaseen et al. (2024) reportaron disminución del tamaño de frutos de pimiento picante, teniendo menor diámetro y longitud ante el aumento de la severidad del estrés. La reducción de es estas variables, así como la disminución del crecimiento de las plantas bajo los tratamientos de sequía pueden estar relacionados con la modificación de procesos fisiológicos y bioquímicos, como la respiración, el intercambio de gases, contenido de clorofila y contenido de agua en las hojas, entre otros (Okunlola et al., 2017).

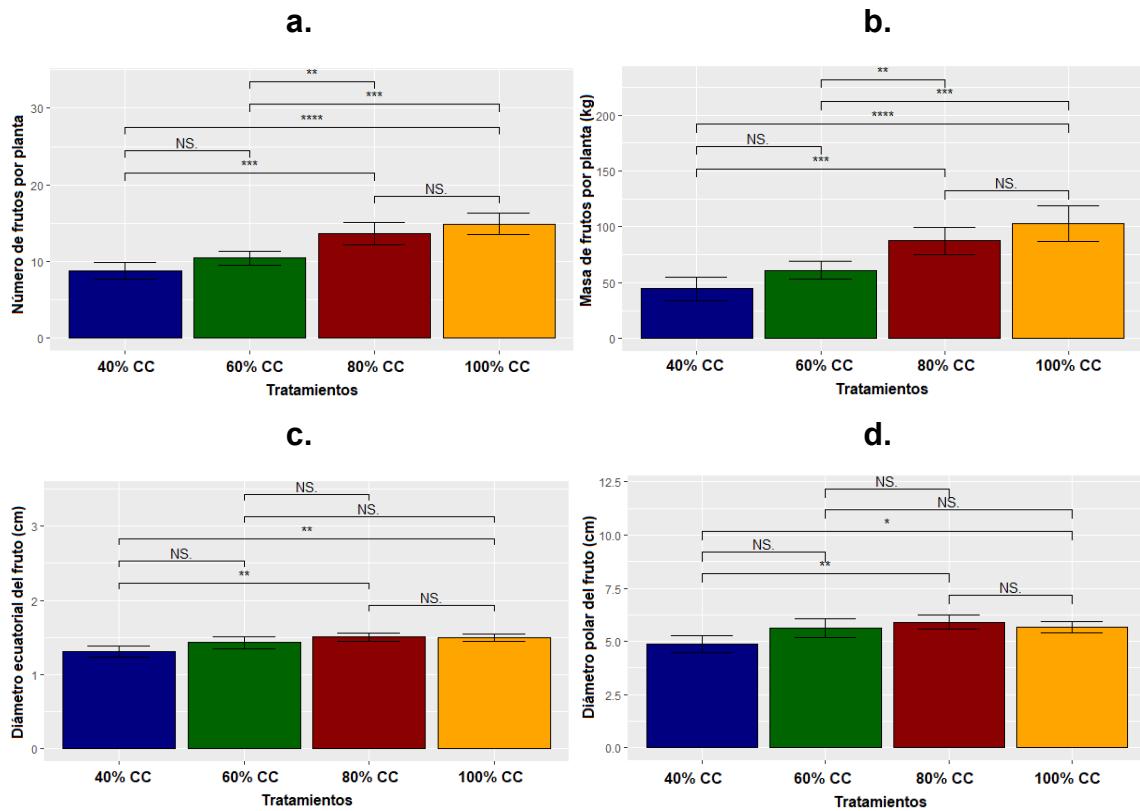


Figura 11. Efectos de condiciones de sequía sobre el rendimiento de *C. annuum*. a. Número promedio de frutos por planta; b. Masa promedio de frutos por planta; c. Diámetro ecuatorial promedio del fruto; d. Diámetro polar promedio del fruto. Los resultados se expresan como la media  $\pm$  el error estándar. Nivel de significancia ( $\alpha$ ) \*\*\*\*=0.01, \*\*\*=0.05, \*\*=0.10, \*=0.2, NS=No significativo.

### b. Propiedades fisiológicas

Se determinó el efecto de las condiciones de sequía en chile jalapeño sobre variables fisiológicas como la fotosíntesis, transpiración, conductancia estomática, déficit de presión de vapor, y el índice de vegetación de diferencia (NDVI), durante todo el ciclo del cultivo (Figuras 12-16).

Durante el tiempo monitoreado se observaron valores fluctuantes para todas las variables estudiadas; donde la fotosíntesis, transpiración y conductancia estomática tendieron a aumentar con un mayor tiempo de exposición a la sequía (Figuras 12, 13, y 14), donde se obtuvieron valores más altos en plantas bien irrigadas (100% CC) y en plantas con una sequía ligera (80% CC).

El déficit de presión de vapor (VPD) mostró un comportamiento similar para todas las condiciones de sequía (Figura 15). En relación con el NDVI, se encontraron valores más bajos para las plantas sometidas a los tratamientos más severos,

hasta el día 54 de tratamiento. Después de este tiempo, todas las plantas mostraron valores similares; lo que evidencia que las plantas son más sensibles al estrés por sequía severo y moderado durante los primeros 16-18 días de tratamiento (etapa vegetativa), después de este tiempo, las plantas comienzan a recuperarse (Figura 16).

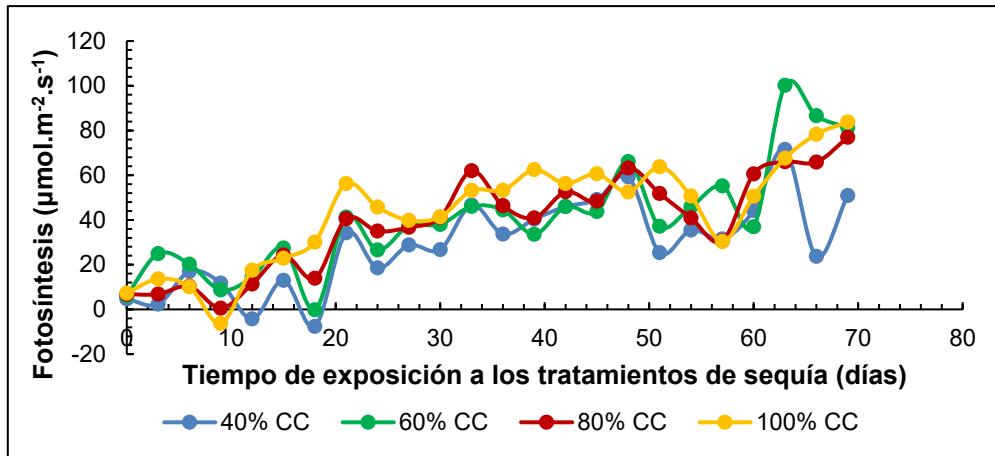


Figura 12. Efecto del estrés por sequía sobre la fotosíntesis en plantas de chile jalapeño.

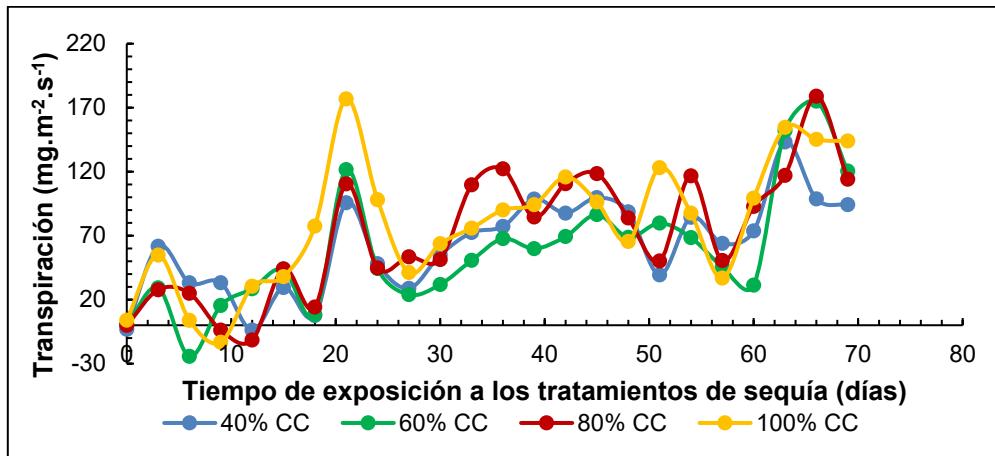
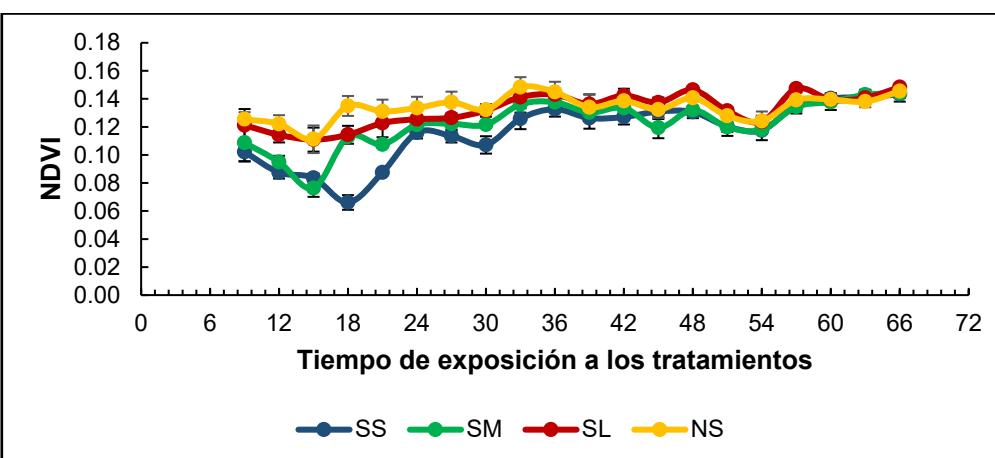
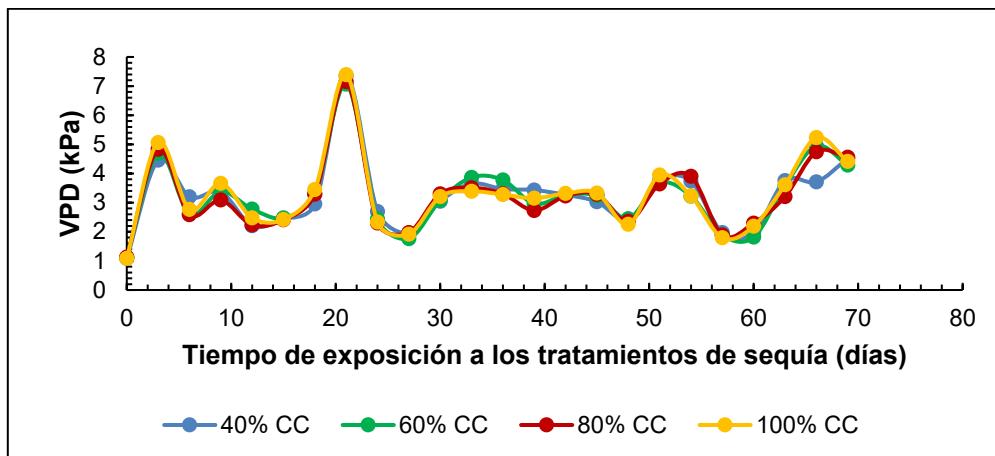
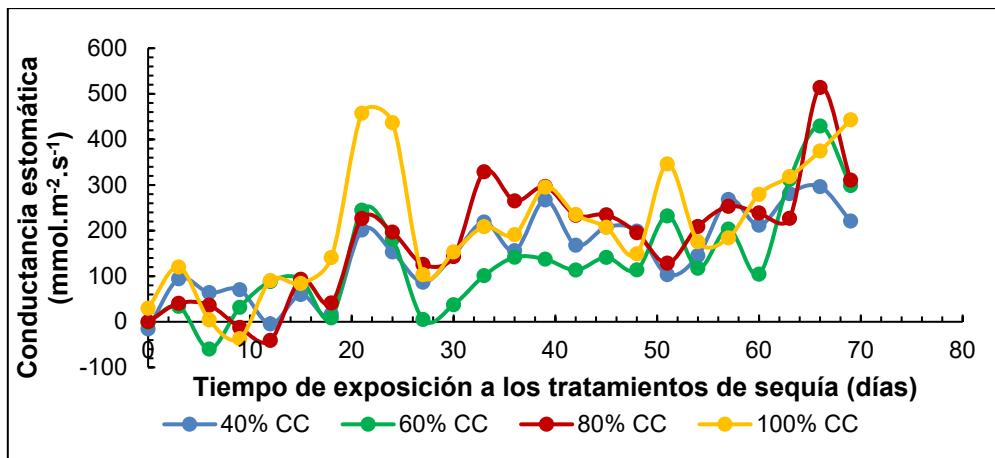


Figura 13. Efecto del estrés por sequía sobre la transpiración en plantas de chile jalapeño.



A continuación se analizan las respuestas fisiológicas monitoreadas en chile jalapeño durante el último día de imposición de tratamientos de sequía (69 DT) (Figura 17). Se observó un menor valor de fotosíntesis, transpiración y conductancia estomática en las plantas tratadas bajo condiciones de sequía (Figura 17, a-c). La condición de sequía severa (40% CC) presentó el mayor efecto sobre estas variables, siendo estadísticamente diferente al control, con una  $p=0.0046$  para fotosíntesis ( $\alpha=0.01$ ),  $p=0.19$  para transpiración ( $\alpha=0.2$ ), y  $p=0.00088$  para conductancia estomática ( $\alpha=0.01$ ).

Los tratamientos con 60% CC presentaron el mismo efecto sobre estas tres variables en comparación con el control ( $0.34 \leq p \leq 0.73$ ). El efecto de la exposición a 80% CC resultó ser estadísticamente igual sobre la fotosíntesis ( $p=0.44$ ) y la transpiración ( $p=0.49$ ), mientras que sobre la conductancia estomática resultó ser diferente ( $p=0.068$ ,  $\alpha=0.1$ ). No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos sobre el déficit de presión de vapor ( $0.87 \leq p \leq 0.98$ ) (Figura 17, d).

En cuanto al índice de vegetación de diferencia normalizada (NDVI), el riego con 80% CC presentó el mayor valor de esta variable, siendo estadísticamente diferente al riego con 40% CC y 100% CC ( $p=0.12$ ,  $\alpha=0.2$ ), y al riego con 60% CC ( $p=0.057$ ,  $\alpha=0.1$ ) (Figura 17, d).

Se ha reportado que la fisiología de los cultivos, como la fotosíntesis, la transpiración, la conductancia estomática, y el intercambio gaseoso, pueden verse afectadas negativamente por el estrés por sequía. Una de las primeras respuestas de las plantas al estrés por sequía es el cierre estomático con la finalidad de evitar la pérdida de agua, promovido por la hormona del ácido abscísico (ABA). El cierre de los estomas impide el flujo de  $\text{CO}_2$  a la planta y del  $\text{H}_2\text{O}$  al aire, provocando alteraciones a nivel fisiológico como la disminución del intercambio de gases, la fotosíntesis, la transpiración y la conductancia estomática (Kang et al., 2023; Martin-StPaul et al., 2017; Melo-Sabogal & Contreras-Medina, 2024; Widuri et al., 2020).

La conductancia estomática es la medida del grado de apertura de los estomas, los cuales tienen un papel fundamental en el intercambio de gases entre el interior

de las hojas y el ambiente externo y el balance hídrico de las plantas (Giménez et al., 2013; Zhu et al., 2018). La conductancia estomática se considera un indicador del estado hídrico de las plantas, regula la fotosíntesis y la transpiración (Bao et al., 2022; Souza et al., 2019). Esta variable fisiológica está inversamente relacionada con las condiciones de estrés hídrico; a mayor estado de severidad de sequía, menor se espera que sea el valor de la conductancia estomática (Goto et al., 2021; Liu et al., 2019). Las modificaciones en la conductancia estomática de las plantas están fuertemente relacionadas con los cambios en el estado hídrico del suelo, por lo que esta variable puede ser un indicador esencial del estado hídrico de las plantas (Giménez et al., 2013), como es el caso de las plantas de chile (Goto et al., 2021).

La reducción de la conductancia estomática y del CO<sub>2</sub> al interior de las hojas disminuye la fotosíntesis, proceso vital para el crecimiento y desarrollo de las plantas (Osakabe et al., 2014), por lo que su mantenimiento es fundamental para mejorar la supervivencia de las plantas al estrés y el rendimiento del cultivo (Hu et al., 2023), debido a esto, la fotosíntesis es considerada como un indicador sensible a la sequía (Zakhidov et al., 2016).

La fotosíntesis es un proceso activado por la luz solar mediante el cual el agua y el dióxido de carbono (reactivos inorgánicos externos) se convierten en carbohidratos (productos orgánicos dentro de la planta), que permiten el mantenimiento, crecimiento, desarrollo, reproducción y respuestas de adaptación de las plantas a las condiciones ambientales (Keller, 2020; Yahia et al., 2019). Este proceso se considera la forma más importante de que las plantas adquieran energía y se reduce en condiciones de sequía como consecuencia del cierre estomático (Parkash et al., 2021; Wang et al., 2018; Yang et al., 2021).

La transpiración es causada por la diferencia de vapor de agua (pérdida de agua) entre el espacio intercelular de la planta y el aire circundante (Kubota, 2020). Así, la transpiración ocurre desde las superficies celulares hacia la cavidad estomática, y la difusión del agua surge del tejido vegetal al aire (Díaz-Pérez, 2018). Además, la transpiración resulta de la fotosíntesis, un proceso fisiológico que juega un papel relevante en el mantenimiento de la temperatura óptima de las hojas y la protección

de la planta de temperaturas extremas (Parkash et al., 2021; Parkash & Singh, 2020; Yang et al., 2021). Cuando las plantas están expuestas a condiciones de sequía, la transpiración disminuye debido al cierre estomático, lo que evita la pérdida de agua de las hojas y los tallos; lo anterior también provoca una disminución en el flujo de CO<sub>2</sub> y, por ende, una reducción en la fotosíntesis de las plantas (Ahluwalia et al., 2021; dos Santos et al., 2022). Debido a que la transpiración es sensible al déficit hídrico, su medición podría determinar el efecto del estrés en las plantas (Liu et al., 2019; Yan et al., 2022).

La reducción de la fotosíntesis, transpiración y conductancia estomática debido a las condiciones del estrés por sequía evaluadas en este estudio pudo haber provocado la disminución en el crecimiento de las plantas mencionado en la sección 9.1.1.a, al reducirse la cantidad de energía disponible para la reproducción y mantenimiento celular. En relación con los resultados de esta investigación, Widuri et al. (2020) encontraron que, durante la etapa vegetativa de *C. annuum*, las variables fotosíntesis, transpiración y conductancia estomática disminuyeron cuando se suspendió el riego y se recuperaron cuando se reabasteció el riego para el mismo período de sequía.

En contraste, para *Capsicum chinense*, no se reportaron cambios en estas características bajo condiciones de suspensión y recuperación del riego, posiblemente asumiendo que el cambio en los caracteres morfológicos permitió el funcionamiento adecuado de los fisiológicos (Nieto-Garibay et al., 2022) de que el estrés por sequía fue bajo en intensidad y tiempo. Por su parte, Ferrara et al., (2011) encontraron que los procesos fisiológicos en *Capsicum annuum* disminuyen cuando se suspendió el riego durante la etapa vegetativa; sin embargo, notaron un efecto más severo de la sequía durante la etapa reproductiva.

Por su parte, el NDVI es una medida adimensional de moda para evaluar la salud de las plantas (Huang et al., 2021). Se ha utilizado para evaluar el impacto y la severidad de la sequía, para detectarla y monitorearla (Das et al., 2023); también, se reporta que el NDVI se utiliza como un indicador del efecto protector de las bacterias benéficas sobre los cultivos en condiciones de estrés biótico (Solano-

Alvarez et al., 2022). Algunas investigaciones reportan que este índice es el más sensible para distinguir el estado hídrico del estrés por sequía en plantas de pimiento morrón, especialmente al 50, 20 y 0% de riego completo (Yildirim et al., 2012); en frijol, el NDVI identificó la ausencia o presencia de estrés por sequía (Silva et al., 2016), mientras que para tomate, este índice permitió diferenciar entre 40 y 80% CC (Rosa et al., 2023). Sin embargo, se requiere más investigación en este campo, ya que se reportan resultados contrastantes para cultivos como el de uva y frijol, donde para uva se demostró que el NDVI no tuvo variación durante eventos de estrés por sequía (Wong et al., 2022), mientras que para frijol, este índice disminuyó solo después de una sequía prolongada (Javornik & Carovi, 2023); por lo que es necesario más estudios donde se monitorie el NDVI, y para incluirlo en la modelación del estado hídrico de las plantas

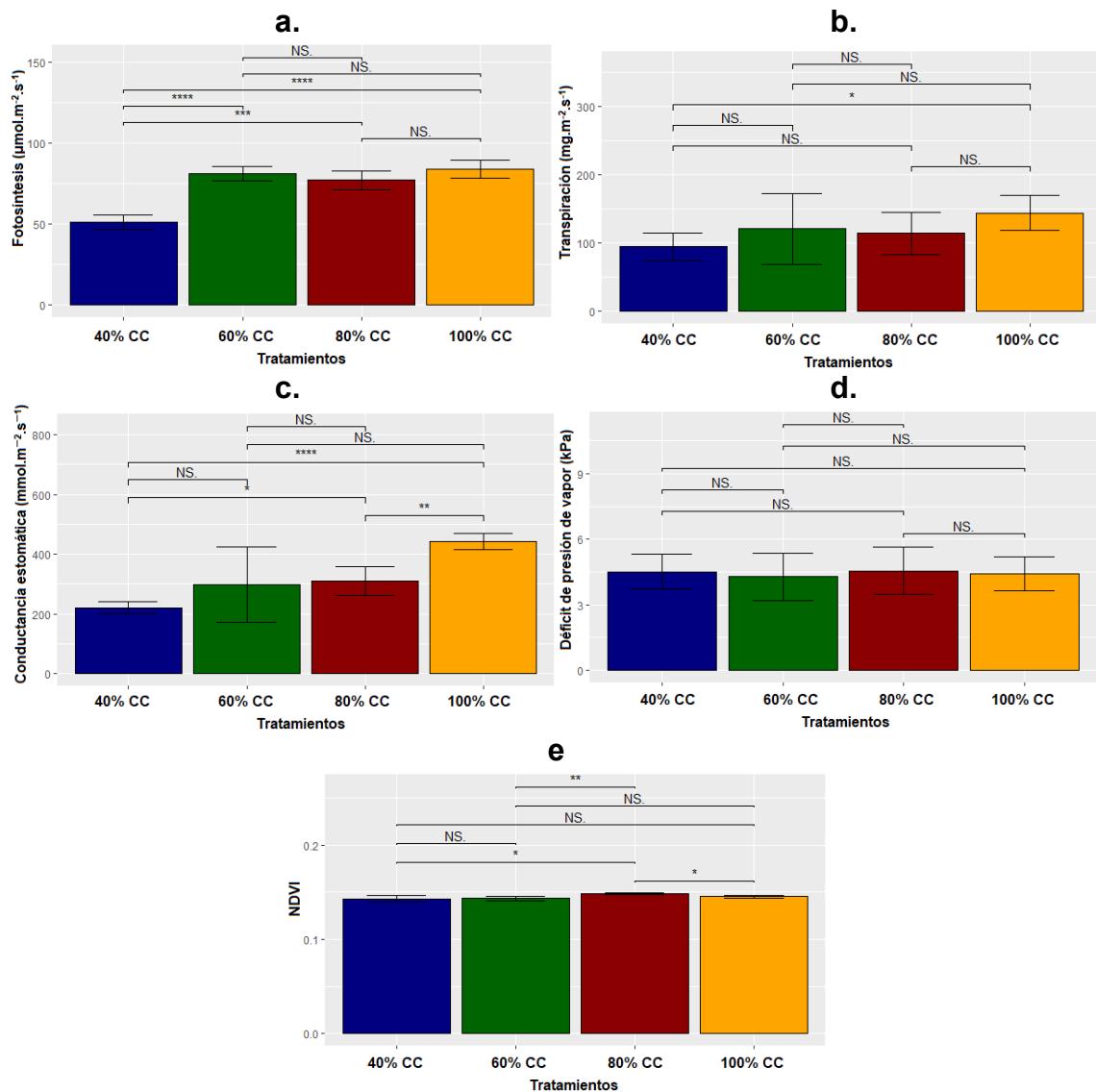


Figura 17. Efecto de las condiciones de estrés por sequía sobre las respuestas fisiológicas de plantas de chile jalapeño. a. Fotosíntesis; b. Transpiración; c. Conductancia estomática; d. Déficit de presión de vapor; e. Índice de vegetación de diferencia normalizada (NDVI). Los resultados se expresan como la media  $\pm$  el error estándar. Nivel de significancia ( $\alpha$ ) \*\*\*\*=0.01, \*\*\*=0.05, \*\*=0.10, \*=0.2, NS=No significativo.

### 9.1.2. Determinación del efecto del estrés por sequía sobre variables bioquímicas en plantas de chile jalapeño

Se determinó el efecto de condiciones de sequía sobre las respuestas bioquímicas de las plantas de chile jalapeño durante diferentes tiempos de exposición a los tratamientos (Figuras 18-23).

El contenido de prolina varió de acuerdo con el tiempo de monitoreo (Figura 18), durante el desarrollo vegetativo de las plantas (0-28 DT), se observó una acumulación de la prolina durante las primeras dos semanas en plantas regadas a 40% CC y 60% CC, mientras que disminuyó para 80% CC, al igual que el control. Posteriormente, para el día 28 de exposición a las condiciones de sequía, se presentó la disminución en el contenido de este osmolito para todos los tratamientos, siendo significativamente menor en plantas regadas a 40% CC en comparación con el control.

Durante la etapa de floración (día 42), no se observaron diferencias estadísticamente significativas en el efecto de los tratamientos de sequía aplicados en comparación con el control. Para el día 56, ya en la etapa de fructificación, la concentración de prolina fue significativamente mayor para 60% CC, seguido de 40 y 80% CC, en comparación con el control.

Finalmente, para el último día de exposición a la sequía, se observó una disminución significativa de la prolina con respecto al día 56, sin embargo, se observaron mayores concentraciones en plantas tratadas con 40 y 60% CC, mientras que 80% CC, aunque con una concentración de prolina mayor a la del control, resultó tener el mismo efecto.

En la Figura 19 se presenta la cinética de la actividad enzimática de CAT en función de los tratamientos de sequía y al tiempo de exposición a los tratamientos. Durante la etapa vegetativa, los tratamientos de sequía presentaron el mismo efecto sobre la actividad de CAT, siendo significativamente menor al control. Esta actividad presentó una ligera disminución para el día 42 (etapa de floración) y se mostró igual para todos los tratamientos y el control.

Para el día 56 (etapa de fructificación), la actividad tendió a aumentar respecto a la medición anterior, aunque no se encontraron diferencias estadísticas significativas entre el efecto de los tratamientos y el control. Al finalizar el tiempo de exposición a la sequía, el tratamiento con 60% CC presentó una mayor actividad de

CAT, siendo estadísticamente igual a 40 y 80% CC, pero significativamente distinta al control.

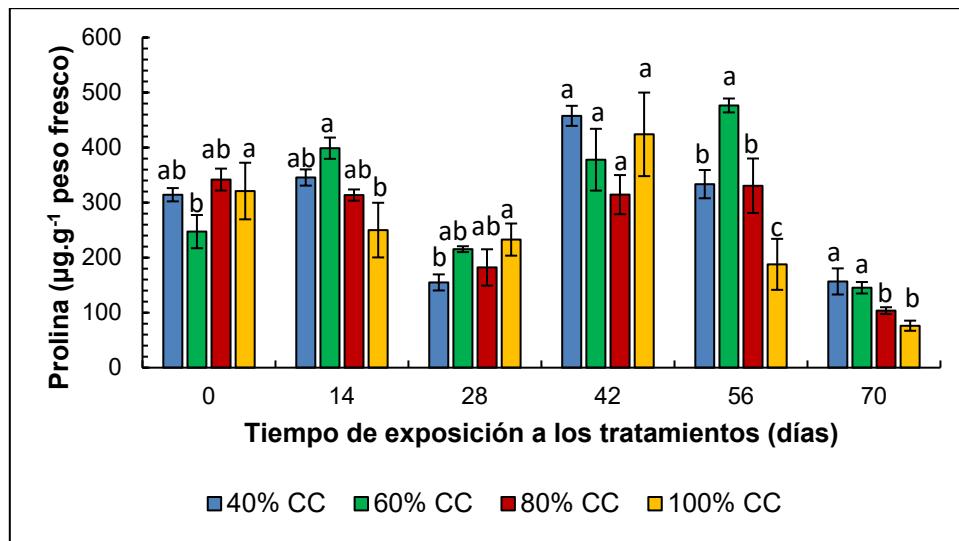


Figura 18. Contenido de prolina en hojas de chile jalapeño bajo condiciones de estrés por sequía durante un ciclo del cultivo. Los resultados se presentan como la media  $\pm$  la desviación estándar. Las letras iguales para cada en cada día de tratamiento representan que no hay diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ( $\alpha=0.05$ ).

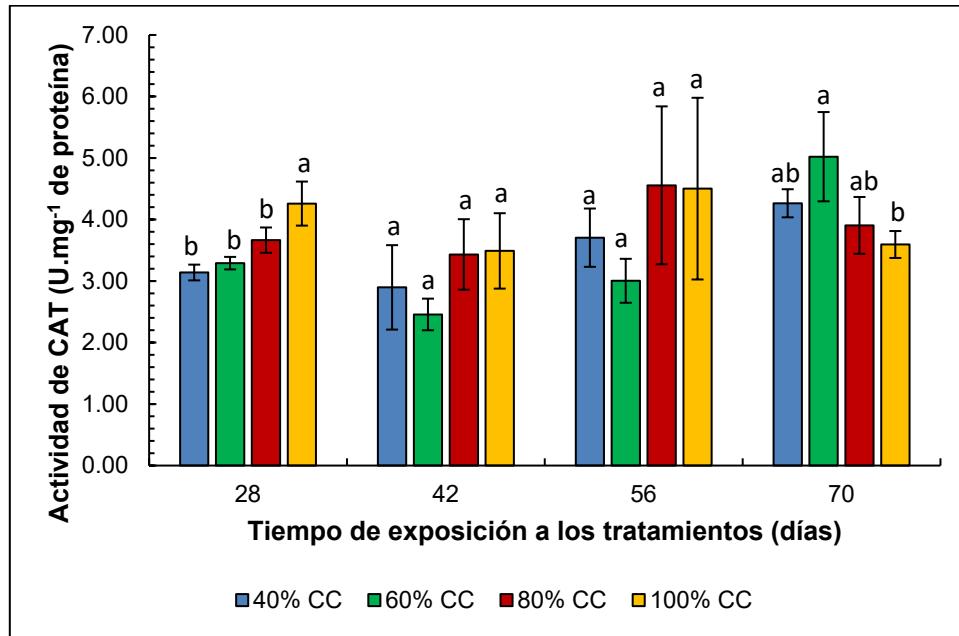


Figura 19. Actividad enzimática de la catalasa en muestras de hojas de chile jalapeño bajo condiciones de estrés por sequía. Los resultados se presentan como la media  $\pm$  la desviación estándar. Las letras iguales para cada en cada día de tratamiento representan que no hay diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ( $\alpha=0.05$ ).

La actividad de POD para las plantas expuestas a los tratamientos de estrés por sequia se muestran en la Figura 20, en donde no se observan diferencias

significativas entre los tratamientos ni con el control durante la etapa vegetativa (28 DT) ni al finalizar el ciclo del cultivo y la aplicación de la sequía. Durante las etapas de floración y fructificación, la actividad de SOD fue significativamente menor para plantas regadas a 60% CC, las mayores actividades de esta enzima se obtuvieron para el tratamiento con 40% CC, sin embargo, resultó ser iguales al control. Finalmente, para el día 70 de tratamientos, ningún tratamiento mostró ser diferente entre sí ni con el control.

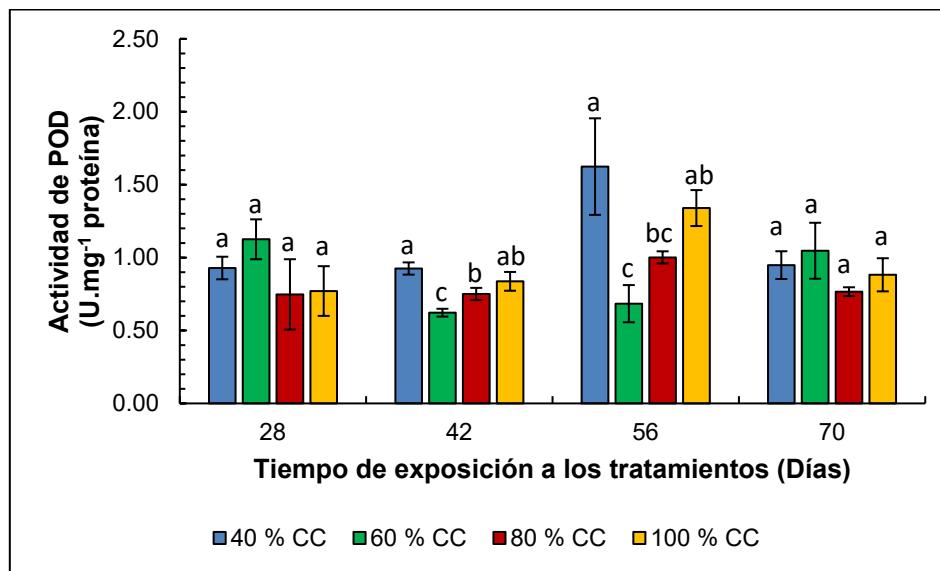


Figura 20. Actividad enzimática de la peroxidasa en muestras de hojas de chile jalapeño bajo condiciones de estrés por sequía. Los resultados se presentan como la media  $\pm$  la desviación estándar. Las letras iguales para cada en cada día de tratamiento representan que no hay diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ( $\alpha=0.05$ ).

La actividad de SOD para el día 28 de exposición a la sequía fue mayor para el tratamiento de 60% CC, seguido del 40% CC, mientras que el tratamiento con 80% CC tuvo el mismo efecto significativo del control. Para el día 42, la actividad de SOD se incrementó drásticamente para 80% CC, también para 40% CC incrementó con respecto al valor estimado para el día 28, 60% CC presentó el menor efecto sobre la actividad de esta enzima, siendo estadísticamente mayor que el control.

En el día 57, la actividad de SOD para todos los tratamientos fue significativamente menor que el control, siendo el tratamiento con 40% CC el que indujo una mayor actividad de SOD para ese día de monitoreo (Figura 21).

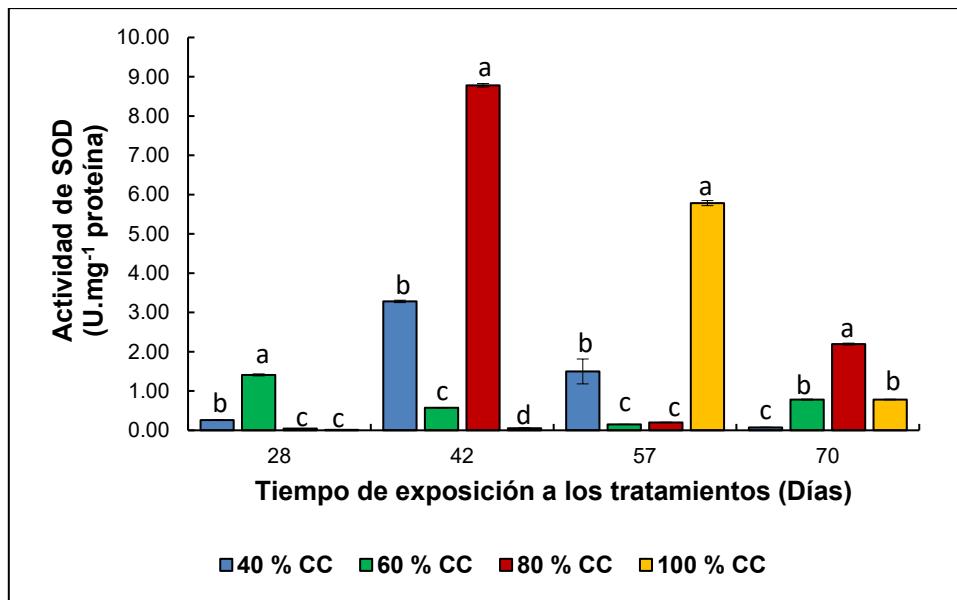


Figura 21. Actividad enzimática de la superóxido dismutasa en muestras de hojas de chile jalapeño bajo condiciones de estrés por sequía. Los resultados se presentan como la media  $\pm$  la desviación estándar. Las letras iguales para cada en cada día de tratamiento representan que no hay diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ( $\alpha=0.05$ ).

En la Figura 22 se presenta la actividad de PAL determinada en muestras de hojas de chile jalapeño expuestas a condiciones de sequía. No se observaron grandes variaciones de la actividad de esta enzima durante el tiempo monitoreado. La exposición a 80% CC resultó tener el mismo efecto que el riego a capacidad de campo sobre la actividad de PAL durante todo el ciclo del cultivo. De manera similar ocurrió en plantas expuestas a 60% CC durante los días 42, 57, y 70, siendo su efecto estadísticamente igual al control, mientras que para el día 28, la actividad de PAL fue significativamente menor.

Por otro lado, la exposición a 40% CC indujo las menores actividades de PAL durante los días 28, 42, y 57, siendo su efecto estadísticamente diferente al control para los días 28 y 57, e igual para los demás días de monitoreo. Al finalizar la

exposición de las plantas a los tratamientos de sequía, la actividad de PAL fue estadísticamente igual para todos los tratamientos.

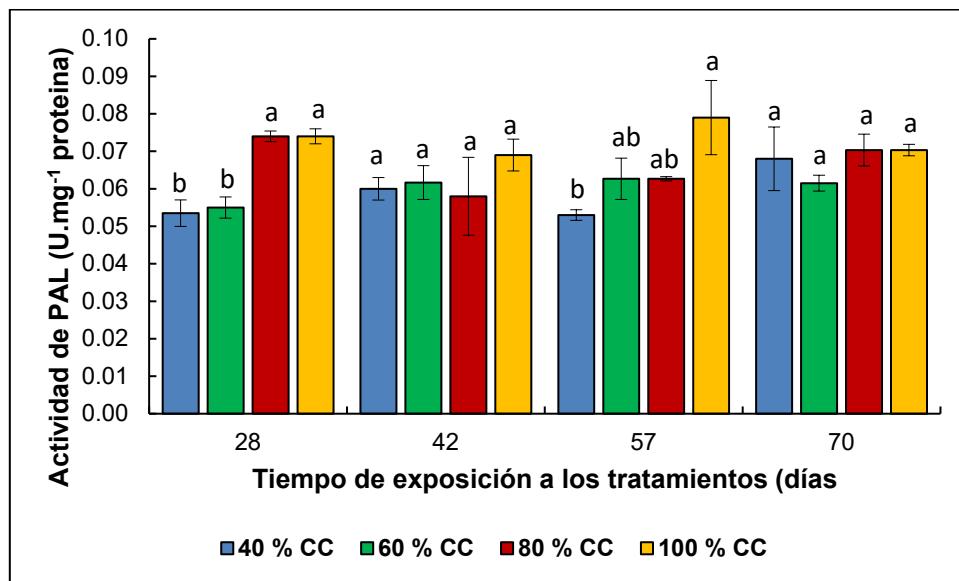


Figura 22. Actividad enzimática de la fenilalanina amonio liasa en muestras de hojas de chile jalapeño bajo condiciones de estrés por sequía. Los resultados se presentan como la media  $\pm$  la desviación estándar. Las letras iguales para cada en cada día de tratamiento representan que no hay diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ( $\alpha=0.05$ ).

La actividad de APX para chile jalapeño expuesto a condiciones de sequía se presenta en la Figura 23. Para los días de tratamiento 28 y 42, la menor actividad de APX se obtuvo para el tratamiento con 60% CC, mientras que los demás tratamientos provocaron una mayor actividad.

En el día 57 de tratamiento se obtuvo un incremento significativo en la actividad de APX promovido por los tratamientos con 40 y 60% CC respecto al control, mientras que con 80% CC se obtuvo el mismo efecto que con el control. Al finalizar el ciclo del cultivo, el efecto de los tratamientos resultó igual sobre la actividad de APX.

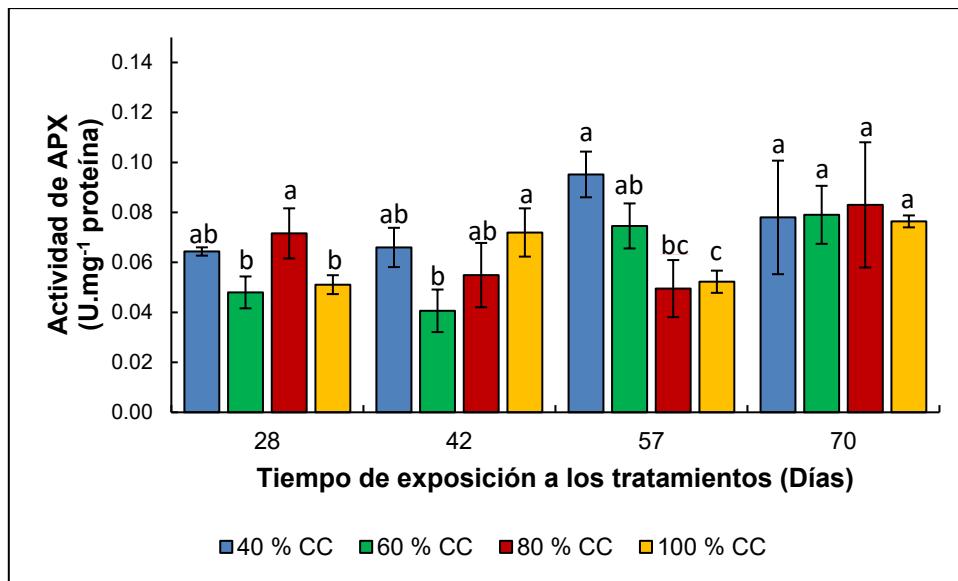


Figura 23. Actividad enzimática de la ascorbato peroxidasa en muestras de hojas de chile jalapeño bajo condiciones de estrés por sequía. Los resultados se presentan como la media  $\pm$  la desviación estándar. Las letras iguales para cada en cada día de tratamiento representan que no hay diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ( $\alpha=0.05$ ).

De acuerdo con los resultados de esta investigación, el contenido de prolina y las actividades enzimáticas de CAT, SOD, POD, PAL y APX cambiaron a lo largo del ciclo fenológico del cultivo de chile jalapeño, independientemente del tratamiento de sequía aplicado. Se ha reportado que las respuestas bioquímicas a la sequía varían dependiendo de la etapa de crecimiento.

Sahitya et al. (2018) reportaron una mayor acumulación de prolina en cultivares de *Capsicum annuum* durante la etapa vegetativa en condiciones de sequía moderada y severa que en la etapa reproductiva. En contraste, Mahmood et al., (2021b) observaron mayor acumulación de prolina durante la fase reproductiva, específicamente durante la fructificación, mientras que la actividad de enzimas como GPX, APX y CAT es mayor en la etapa vegetativa. En concordancia con lo anterior, la información sobre los efectos y respuestas bioquímicas a la sequía en *C. annuum* aún es contrastante, por lo que es necesario monitorear todo el ciclo de crecimiento del cultivo de chile expuesto a condiciones de sequía constante.

A continuación se muestran las respuestas bioquímicas determinadas en muestras de hojas de chile jalapeño frente a condiciones de sequía evaluadas al final del ciclo del cultivo (Figura 24). Después de 69 días de exposición a la sequía,

se observó un incremento significativo en el contenido de prolina ante el aumento en la severidad de las condiciones de déficit hídrico ( $p \leq 0.017$ ,  $\alpha=0.05$ ) (Figura 24, a), el riego a 40% CC promovió un incremento del 105.52% en la cantidad de prolina, 60% CC indujo al aumento en un 90.47%, mientras que 80% CC incrementó esta variable en un 35.96%.

En relación con los resultados obtenidos, se encontró que el tratamiento con 60 indujo a una mayor actividad de CAT (Figura 24, b), sin embargo, su efecto fue estadísticamente igual al promovido los demás tratamientos y el control ( $p \geq 0.2$ ,  $\alpha=0.2$ ). La actividad de POD también fue mayor en plantas regadas a 60% CC (Figura 24, c), sin embargo, el efecto de este tratamiento fue estadísticamente igual al inducido por 40% CC y el control ( $p \geq 0.27$ ,  $\alpha=0.2$ ). Por otro lado, la actividad de SOD fue significativamente mayor en plantas regadas a 80% CC ( $p \leq 0.00002$ ,  $\alpha=0.01$ ), mientras que la menor actividad de esta enzima se encontró en las plantas tratadas bajo la condición más severa de sequía (Figura 24, d). Finalmente, todos los tratamientos presentaron el mismo efecto estadístico que el control sobre la actividad de las enzimas PAL ( $p \geq 0.24$ ) y APX ( $p \geq 0.57$ ) (Figura 24, e y f).

La prolina, aminoácido que se sintetiza en el citosol de las células vegetales y se acumula en los cloroplastos, desempeña un papel muy importante en el mantenimiento del metabolismo y en el crecimiento de las plantas bajo condiciones de estrés abiótico (Ghosh et al., 2022). La acumulación de prolina en las plantas es una respuesta al estrés osmótico que provocan el estrés por sequía y la salinidad, fundamental para su supervivencia. Este importante aminoácido actúa como osmoprotector, estabilizador de estructuras celulares, y como una molécula de defensa antioxidante que elimina ROS como  $H_2O_2$  y  $O_2^-$ , aliviando el estrés oxidativo provocado por la sequía (Abd-El-Aty et al., 2024; Ghosh et al., 2022; Khan et al., 2025). El incremento en los niveles de prolina también contribuye a mantener la homeostasis celular, la absorción de agua, y el equilibrio redox mediante la regulación de enzimas antioxidantes como APX, GPX, y CAT (Khan et al., 2025; Mahmood et al., 2020; Meena et al., 2019; Nasrin et al., 2020; Yang et al., 2021). Debido a lo anterior, la prolina aumenta la capacidad de las plantas para sobrevivir

al estrés hídrico (Kijowska-Oberc et al., 2023; Sharma et al., 2019); por lo que podría considerarse como un biomarcador de estrés por sequía (Choi et al., 2020).

Diversos investigadores han reportado cambios en el contenido de prolina en diversas especies sometidas a condiciones de sequía. En concordancia con los resultados de esta investigación, Wassie et al., (2023) encontraron un aumento significativo del contenido de prolina en dos de tres cultivares de pimiento rojo etíope (*C. annuum* L.), siendo mayor con el incremento del nivel de sequía (80, 60, y 40%), en comparación con el control.

Por otro lado, Mendoza-Alatorre et al. (2024) observaron que la aplicación de estrés por sequía en chile chiltepín (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) indujo un aumento del contenido de prolina 30 veces mayor que en plantas no estresadas. Por su parte, Mahmood et al., (2021a) reportaron un incremento en los niveles de prolina en pimiento morrón (Green Wonder y PPE-311) bajo una condición de sequía del 35% CC en comparación con su control (65% CC), y mencionaron que su acumulación juega un papel crítico en la tolerancia de estos genotipos a la sequía. Macias-Bobadilla et al., (2020) también reportaron niveles más altos de este osmolito en plantas de chile (*C. annuum* L.) expuestas a la sequía en comparación con plantas bien regadas. También se ha reportado aumento de los niveles de prolina en maíz (*Zea mays* L.) (Khan et al., 2025), pepino (*Solanum muricatum*) (Pacheco et al., 2021), repollo (*Brassica oleracea* var. *capitata* cv. Yalova 1) (Sahin et al., 2018) y zanahoria (*Daucus carota* L.) (Razzaq et al., 2017).

Otro de los mecanismos de defensa de las plantas expuestas a condiciones de sequía es la defensa antioxidante, que son biomoléculas que permiten su aclimatación y adaptación a factores de estrés abiótico (Llauradó Maury et al., 2020). Las plantas sometidas a estrés por sequía pueden llegar a experimentar estrés oxidativo al incrementarse moléculas ROS como el radical superóxido ( $O_2\cdot^-$ ), alcoxilo ( $RO\cdot$ ), hidroxilo ( $HO\cdot$ ), peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y el oxígeno diatómico ( $O_2$ ) (Choudhury et al., 2013; Yadav et al., 2021). Para contrarrestar el estrés oxidativo producido por la exposición a la sequía, las plantas incrementan la

actividad de enzimas antioxidantes para mantener en equilibrio los niveles de ROS, a través de enzimas como SOD, CAT, POD, APX, etc.

La actividad de algunas enzimas como CAT, POD, SOD, APX, y PAL juegan un papel crítico en la respuesta de las plantas a la deficiencia hídrica. La actividad de CAT y POD desempeñan un papel protector muy importante contra el estrés por sequía, ayudando a controlar el estrés por sequía al eliminar el  $H_2O_2$  (Mafakheri et al., 2011). Por otro lado, SOD y APX son utilizadas por las plantas como su defensa primaria para eliminar  $H_2O_2$  en condiciones de sequía (Gomes et al., 2022). Según El Haddad et al. (2023), estas enzimas podrían ser utilizadas como indicadores metabólicos para determinar la tolerancia de las plantas a la sequía. Por su parte, PAL es considerada una variable importante debido a que está involucrada en la defensa de las plantas frente al estrés por sequía (Qin et al., 2022); la acumulación de esta enzima provoca la producción de compuestos fenólicos como los flavonoides (Macias-Bobadilla et al., 2020).

Se encontraron resultados contrastantes de la actividad de las enzimas estudiadas frente al estrés por sequía. Trejo-Paniagua et al. (2024) reportaron un incremento de la actividad de CAT y SOD en plantas de chile picante (*Capsicum frutescens*) frente la sequía por suspensión del riego durante 14 días. Por el contrario, Jaswanthi et al. (2019) reportaron un aumento en la actividad de POD pero una disminución de la actividad de CAT en pimiento picante tratado con 40% CC. De otro lado, Mahmood et al., (2021a) observaron un incremento en la actividad relativa de CAT y APX en pimiento picante y dulce durante la etapa de formación de fruto.

Por su parte, Akhounnejad & Baran (2023) mencionaron que bajo condiciones de estrés por sequía con 25 y 50% CC las plantas de *Capsicum annuum* L. mostraron una mayor actividad de enzimas antioxidantes como CAT, SOD, y APX, y que este aumento fue mayor a medida que incrementaba la severidad de la sequía. En otras especies también se han reportado datos contrastantes. En alcaparras (*Capparis spinosa* L.) la actividad de CAT, POD, SOD, y APX se incrementaron significativamente bajo sequía a 75% CC (Afzali et al., 2023). En

arroz (*Oryza sativa* L.), la actividad de CAT y SOD también se incrementó ante la sequía por suspensión del riego (Nasrin et al., 2020). De igual forma, en plantas zanahoria mantenidas a 50% CC se reportó un incremento en la actividad de CAT, SOD, y POD (Razzaq et al., 2017); mientras que en repollo (*Brassica oleracea*) la actividad de estas enzimas fue menor al control (Sahin et al., 2018).

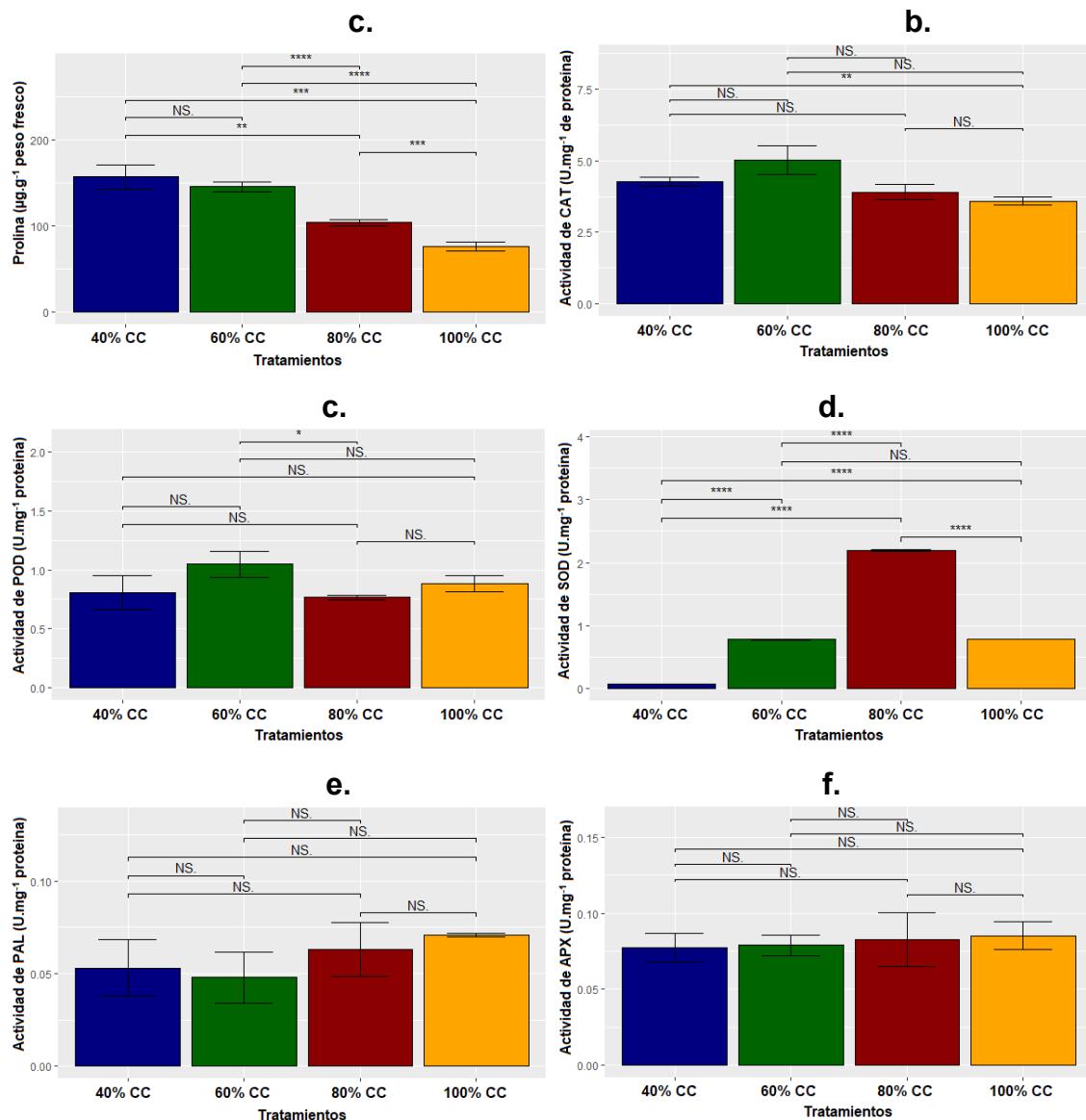


Figura 24. Efecto de las condiciones de estrés por sequía sobre las respuestas bioquímicas de plantas de chile jalapeño. a. Prolina; b. Actividad de catalasa (CAT); c. Actividad de superóxido dismutasa (SOD); d. Actividad de fenilalanina amonio liasa (PAL); e. Actividad de ascorbato peroxidasa (APX). Los resultados se expresan como la media  $\pm$  el error estándar. Nivel de significancia ( $\alpha$ ) \*\*\*\*=0.01, \*\*\*=0.05, \*\*=0.10, \*=0.2, NS=No significativo.

El estrés por sequía puede desencadenar la biosíntesis de metabolitos secundarios, los cuales median la maquinaria antioxidante para eliminar las ROS y proteger a las plantas contra el estrés oxidativo y la pérdida excesiva de agua (Yadav et al., 2021); entre estas moléculas se encuentran los capsaicinoides, compuestos fenólicos y flavonoides (Ricardez-Miranda et al., 2021). Debido a lo anterior, se determinó el efecto de las condiciones de sequía sobre la acumulación de estos metabolitos en frutos de chile jalapeño al finalizar la exposición a los tratamientos estudiados (Figura 25).

El contenido de capsaicinoides totales resultó significativamente superior para los tratamientos con 40 y 80% CC en comparación con el control ( $p \leq 0.000099$ ,  $\alpha=0.01$ ), mientras que fue menor para 60% CC ( $p \leq 0.00046$ ,  $\alpha=0.01$ ) (Figura 25, a). Por su parte, la concentración de polifenoles totales fue significativamente mayor para el tratamiento con 80% CC ( $p=0.051$ ,  $\alpha=0.1$ ), mientras que se vio disminuida para 40 y 60% CC en comparación con 100% CC ( $p \leq 0.00064$ ,  $\alpha=0.01$ ) (Figura 25, b). Por otro lado, el contenido de flavonoides totales incrementó de manera significativa cuando más severa era la sequía a excepción de 40% CC ( $p \leq 0.01$ ), tratamiento que provocó una disminución de estos metabolitos (Figura 25, c).

Se conoce que el estrés por sequía puede alterar el contenido de capsaicinoides en frutos de chile. Jeeatid et al., (2018) comprobaron que el estrés por sequía incrementa el contenido de capsaicinoides como la capsaicina e hidroxicapsaicina en cultivares de pimiento picante (*Capsicum chinense* Jacq.); sin embargo, su comportamiento cambia de acuerdo con la variedad y el nivel de sequía. En concordancia con lo anterior, Kopta et al., (2020) reportaron que la biosíntesis de capsaicinoides presentó un comportamiento diferente entre variedades de chile (*C. chinense* Jacq., *C. annuum* L., y *C. baccatum* L.) expuestas a un contenido volumétrico de agua de 18-28%, siendo mayor durante 21 días que una duración de estrés más prolongada (34 días), donde *C. chinense* "Jolokia" resultó ser más sensible al estrés.

Por su parte, Mahmood et al. (2021a) encontraron que bajo 35% CC el comportamiento del contenido de capsaicina cambia de acuerdo con la variedad y

la etapa fenológica, siendo mayor durante la etapa de formación de vainas para variedades de pimiento picante, mientras que en pimiento morrón fue significativamente menor durante esta etapa, pero igual al encontrado para la etapa de formación. Por el contrario, Ricardez-Miranda et al. (2021) observaron que los niveles de capsaicinoides no se vieron afectados con la exposición de *Capsicum annuum* var. *Glabriusculum* a un déficit hídrico de 50% CC. La información contrastante entre las variaciones del contenido de capsaicinoides de acuerdo con los niveles de sequía podría explicar los resultados obtenidos en esta investigación (Figura 25, a).

Con respecto al contenido de polifenoles y flavonoides, se conoce que las plantas activan su biosíntesis como mecanismo de supervivencia cuando están sometidas a déficit hídrico (Park et al., 2023). Los niveles de polifenoles y flavonoides incrementaron en cultivos de *Capsicum annuum* L. al someterse a 25 y 50% CC, siendo significativamente mayor en la condición de sequía más severa (Akhoundnejad & Baran, 2023). En dos cultivares de pimiento rojo etíope (*C. annuum* L.) el contenido de polifenoles totales aumentó significativamente a medida que incrementaba el nivel de severidad de la sequía (80, 60, y 40%), en comparación con el control; mientras que en otro cultivar de pimiento el nivel de este metabolito fue estadísticamente igual para todos los tratamientos (Wassie et al., 2023). En hojas de *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*, el contenido de polifenoles y flavonoides totales no fue afectado por tratamientos de déficit hídrico (50% CC) durante la etapa reproductiva (Ricardez-Miranda et al., 2021).

En otras especies de hortalizas se encontraron resultados semejantes, por ejemplo, en col china (*Brassica rapa*), los niveles de polifenoles y flavonoides no cambiaron significativamente entre los controles y las plantas mantenidas bajo estrés por sequía con un contenido de humedad del suelo del 30% (Shawon et al., 2020). De manera similar, en pepino (*Solanum muricatum*) no se observaron diferencias significativas en el contenido de flavonoides totales para la mayoría de los cultivares sometidos a sequía moderada y severa, en comparación con el control. Sin embargo, en otro cultivar se presentó una reducción del 65.7% en

relación con el control para plantas mantenidas bajo sequía severa (Pacheco et al., 2021).

De acuerdo con los resultados obtenidos para los metabolitos secundarios evaluados en frutos de chile (Figura 25, a-c), y lo reportado en la literatura para *C. annuum* y para otras hortalizas, el comportamiento de los capsaicinoides, fenoles y flavonoides totales puede variar en función de la especie vegetal, cultivar y del nivel de sequía al que son expuestas las plantas.

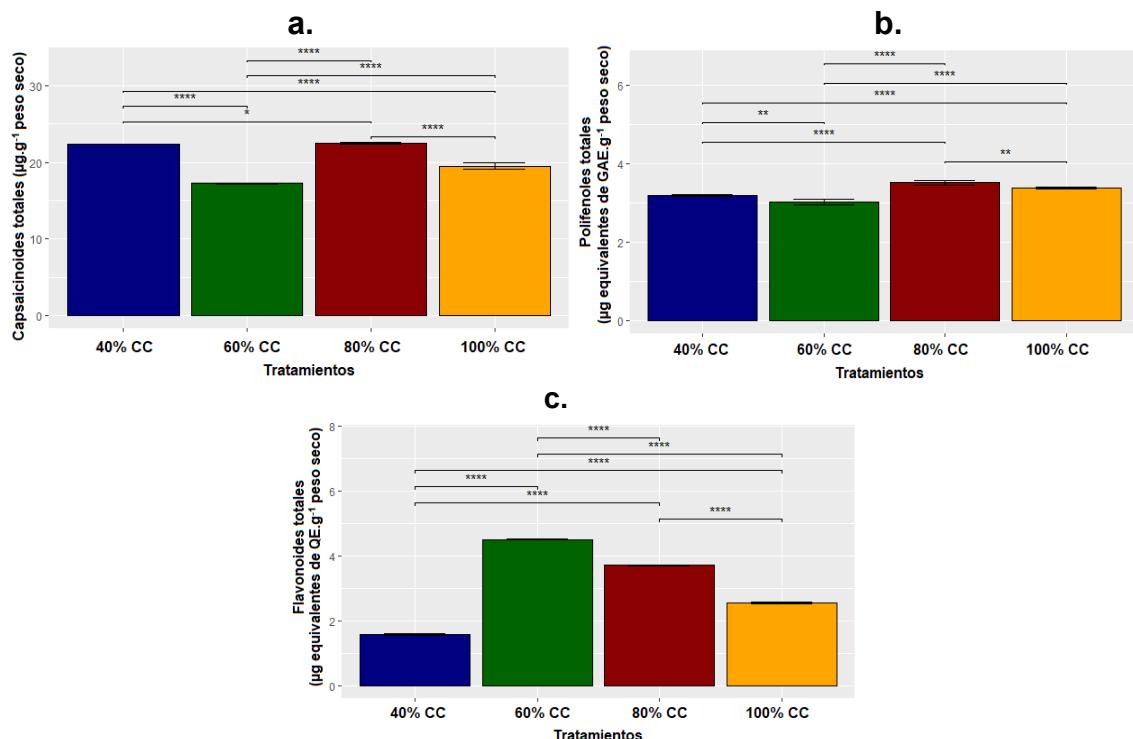


Figura 25. Contenido de metabolitos en frutos de chile jalapeño. a. Capsaicinoides totales; b. Polifenoles totales; c. Flavonoides totales. Los resultados se expresan como la media  $\pm$  el error estándar. Nivel de significancia ( $\alpha$ ) \*\*\*\*=0.01, \*\*\*=0.05, \*\*=0.10, \*=0.2, NS=No significativo.

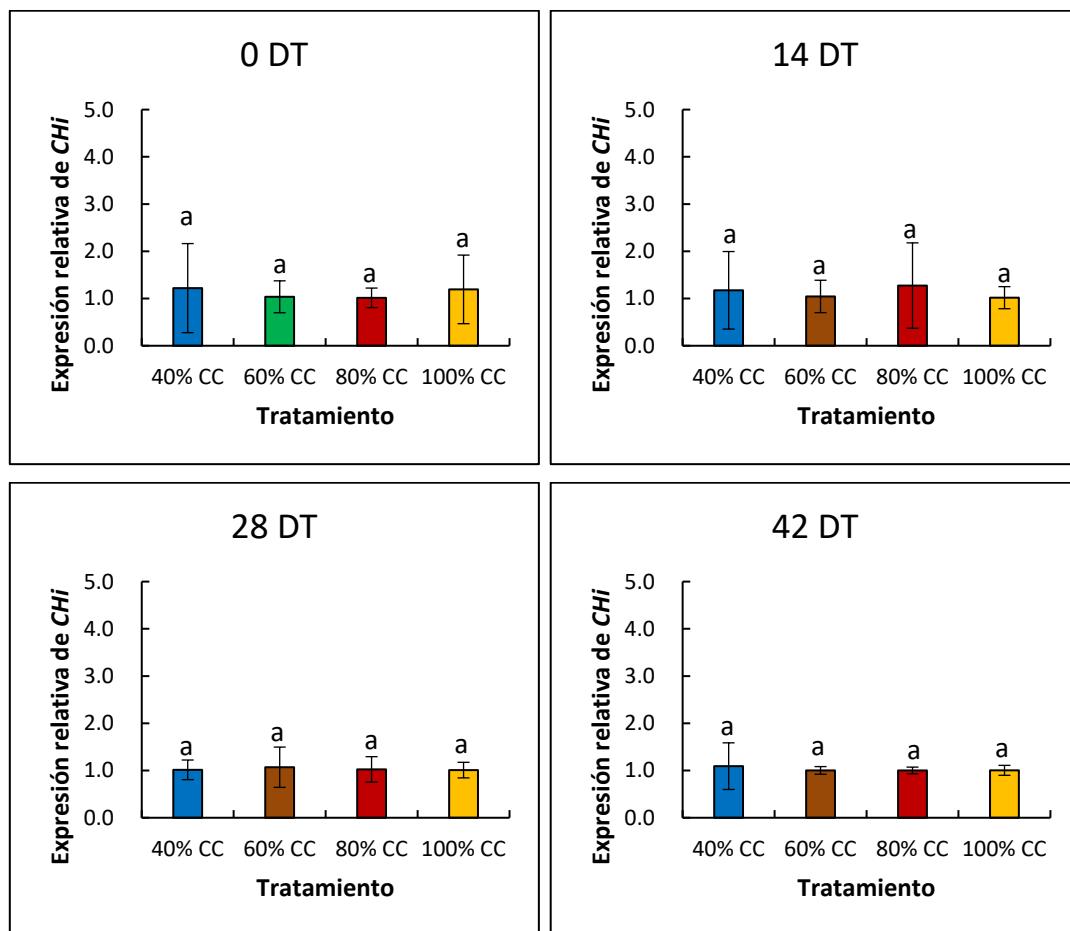
### 9.1.3. Efecto de condiciones de estrés por sequía sobre la expresión relativa de chalcona isomerasa

La Chalcona isomerasa es una enzima clave en la biosíntesis de flavonoides, cuya función es la de convertir la chalcona en flavanona, lo que es fundamental para la biosíntesis de otros flavonoides (Gharibi et al., 2019; Jayaraman et al., 2021; Ma et al., 2014; Zhu et al., 2021).

Debido a lo anterior, y considerando que los flavonoides son metabolitos secundarios que ayudan a las plantas a sobrevivir frente a diversas condiciones de

sequía, se determinó el efecto de las condiciones de sequía sobre la expresión relativa del gen Chalcona isomerasa.

En la Figura 26 se presenta la expresión relativa del gen de CHi obtenida para hojas de plantas de chile jalapeño sometidas a condiciones de estrés por sequía permanente, para los días de tratamiento 0, 14, 28, 42, 56, y 70. No se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $\alpha=0.2$ ) entre el efecto de las condiciones de déficit de riego y del control (100% CC) para ninguno de los tiempos monitoreados (Figura 26).



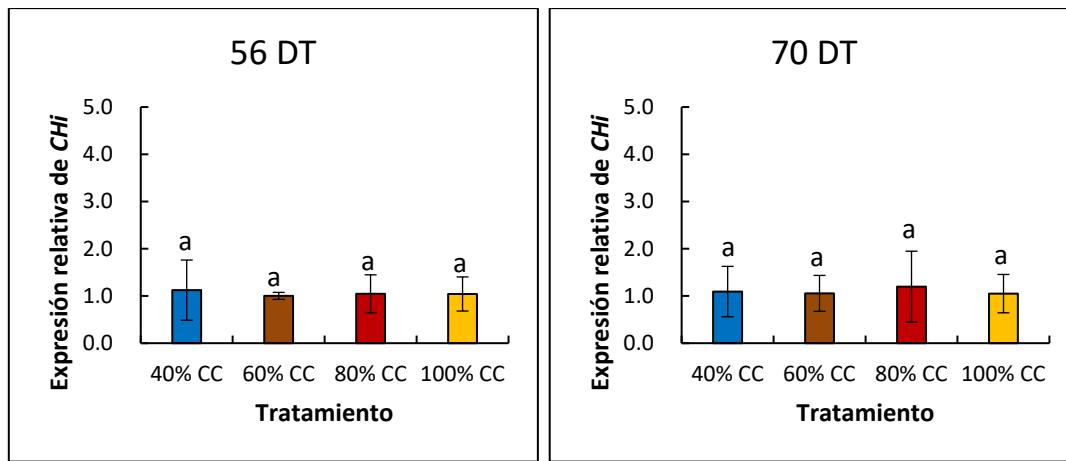


Figura 26. Expresión relativa de chalcona isomerasa (*CHi*) en hojas de plantas de chile jalapeño sometidas a tratamientos de estrés por sequía. Los resultados se presentan como la media  $\pm$  la desviación estándar. Las letras iguales para cada en cada día de tratamiento representan que no hay diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ( $\alpha=0.05$  y  $\alpha=0.2$ ).

#### 9.1.4. Obtención de modelos matemáticos que estimen y predigan el estrés por sequía en plantas de chile jalapeño

Los datos acumulados para las respuestas morfológicas (altura de la planta, diámetro del tallo, y peso de la planta), fisiológicas (fotosíntesis, transpiración, conductancia estomática, y NDVI), y bioquímica (prolina) de *C. annuum* a los tratamientos de estrés por sequía se muestran en la Figura 27.

Los datos de regresión lineal se eligieron para cada respuesta de acuerdo con su comportamiento lineal: 0 a 66 DT para la altura de la planta (Figura 27, a), 3 a 66 DT para peso de la planta (Figura 27, c); 21 a 57 DT para diámetro del tallo, fotosíntesis, transpiración, y conductancia estomática (Figura 27, b, d, e, y f); 9 a 54 DT para NDVI (Figura 27, g), y 0 a 70 DT para Pro (Figura 27, h).

El área resaltada en el recuadro punteado es el periodo contemplado para la regresión lineal. Los valores de respuesta fisiológica se utilizaron a partir de los 21 DT, debido a que el sistema de monitoreo de fotosíntesis que se utilizó tiene un área de 4x4 cm, que no cubría la mayor área de hojas de chile y no era posible obtener resultados precisos en días anteriores.

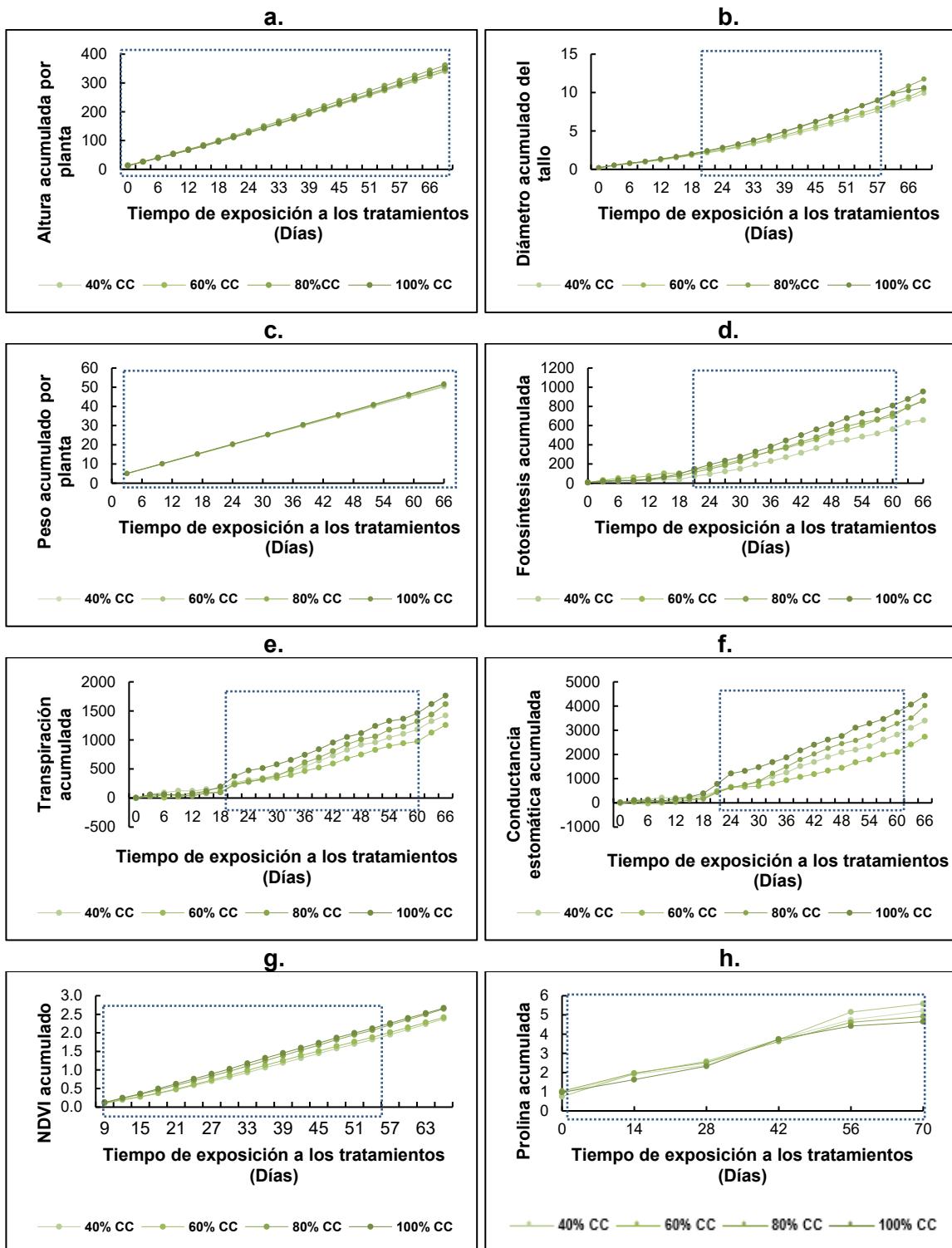


Figura 27. Comportamiento de las respuestas morfo-fisiológicas y bioquímica acumuladas de plantas de *C. annuum* bajo condiciones de sequía. a. Altura acumulada por planta; b. Diámetro de tallo acumulado; c. Peso acumulado por planta; d. Fotosíntesis acumulada; e. Transpiración acumulada; f. Conductancia estomática acumulada; g. NDVI: índice de vegetación de diferencia normalizada acumulado; h. Prolina acumulada.

Los estimadores de estrés por sequía (valores  $\beta$ , donde ésta es la pendiente del modelo lineal para cada una de las variables) se obtuvieron mediante modelos de regresión lineal para variables morfo-fisiológicas y bioquímicas para Capsicum annuum bajo 40, 60, 80 y 100% CC (Figura 28).

En general, los intervalos de  $\beta$  para la altura de la planta (Figura 28, a), el diámetro del tallo (Figura 28, b), el peso de la planta (Figura 28, c), la fotosíntesis (Figura 28, d), y NDVI (Figura 28, g), disminuyen conforme aumenta la severidad del estrés, lo que podría estar relacionado con una menor tasa fotosintética así como un menor desarrollo de la planta ocasionado por las condiciones de sequía evaluadas.

En el caso de la transpiración y la conductancia estomática (Figura 28, e y f), los valores más bajos de  $\beta$  se obtuvieron para el nivel de sequía moderado (60% CC). Para esta misma condición, se encontraron mayores valores de prolina (Figura 28, h). Lo anterior sugiere un mayor efecto del riego a capacidad de campo de 60% sobre la disminución de la fotosíntesis y la transpiración, así como en la acumulación de prolina.

En la Figura 28, se muestran algunas áreas punteadas que representan el intervalo de  $\beta$  en el que no fue posible distinguir entre las condiciones de sequía evaluadas para las variables analizadas. En contraste, las áreas coloreadas representan valores de  $\beta$  en los que se pudo hacer una distinción entre estos tratamientos. Se encontró que el monitoreo de la fotosíntesis y NDVI, así como los rangos de  $\beta$  obtenidos para estas variables permiten distinguir entre condiciones de riego de 40, 60, 80 y 100% CC, con niveles de confianza de 95% y 80%, respectivamente (Figura 28, d y g).

Por otro lado, las variables transpiración y conductancia estomática, con un nivel de confianza de 95%, permitieron la distinción entre los niveles de sequía de 40 y 60% CC. Sin embargo, no fue posible diferenciar entre 80% CC y el control (100% CC); la distinción entre estas dos últimas condiciones se pudo realizar solamente para los valores de  $\beta$  que no se encuentran en la zona de traslape (Figura 28, e y

f). Esto podría sugerir que el impacto de la sequía ligera (80% CC) sobre la tasa de transpiración y la conductancia estomática es similar al del control.

De manera similar, los valores  $\beta$  para el peso de la planta, con un nivel de confianza del 85%, permitieron distinguir entre sequía severa (40% CC) y moderada (60% CC), ya que no existe traslape entre los valores estimados para  $\beta$  en estos dos tratamientos. En contraste, 80% CC y el control solo pudieron distinguirse para valores de  $\beta$  que no se encuentran dentro del área de traslape (Figura 28, c).

Respecto a la altura de la planta, el diámetro del tallo, y contenido de prolina (Figura 28, a, b, y h), los valores  $\beta$  obtenidos con un nivel de confianza del 80% no son útiles para la distinción entre las condiciones de estrés por sequía evaluadas, excepto para los valores de  $\beta$  en los que no existen áreas de traslape (áreas punteadas), esto sugiere que el impacto de la sequía sobre estas variables no es tan representativo como lo es sobre otras variables entre los diferentes niveles de sequía.

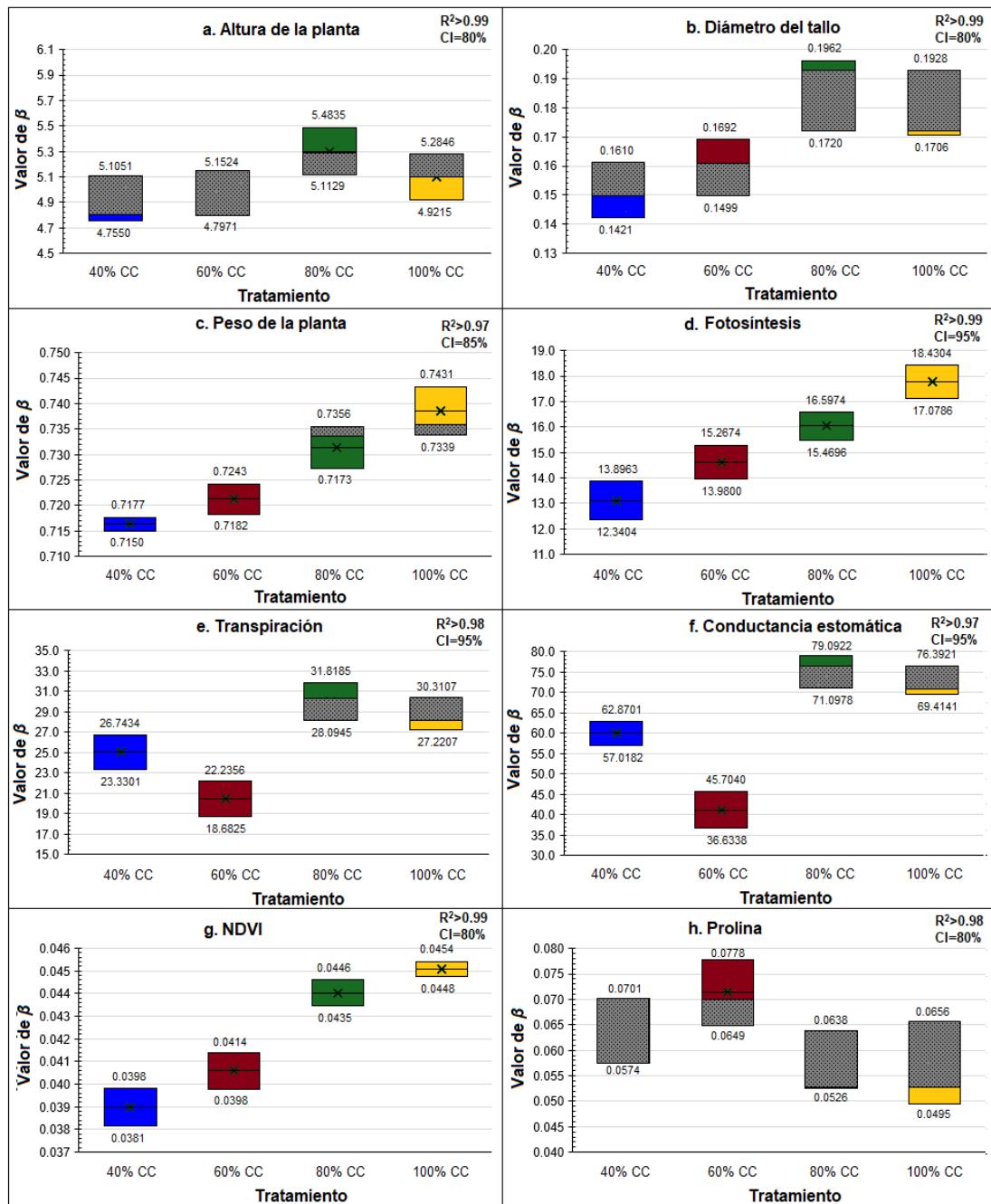


Figura 28. Rangos de intervalos de la pendiente ( $\beta$ ) para la clasificación del estado de estrés por sequía de plantas de *Capsicum annuum* a partir de modelos de regresión lineal con variables acumuladas, para: a. Altura acumulada por planta; b. Diámetro de tallo acumulado; c. Peso acumulado por planta; d. Fotosíntesis acumulada; e. Transpiración acumulada; f. Conductancia estomática acumulada; g. NDVI: índice de vegetación de diferencia normalizada acumulado; h. Prolina acumulada.  $R^2$ : Coeficiente de determinación; CI: Intervalo de confianza.

En el Cuadro 19 se resume el conjunto de variables que, al ser monitoreadas en *C. annuum* y de acuerdo con los valores  $\beta$ , podrían ser utilizadas para conocer el estado hídrico de las plantas y el impacto que tiene la sequía sobre los incrementos de estas variables.

De acuerdo con los resultados obtenidos, el monitoreo de la fotosíntesis, transpiración, conductancia estomática, y el peso de la planta, y mediante la estimación de la tasa de cambio o incremento ( $\beta$ ) para cada una de estas variables a través de un modelo de regresión lineal, podría ser de utilidad para distinguir un nivel de sequía severa (suelos regados con 40% CC) o un nivel de sequía moderada (suelos regados con 60% CC).

Al mismo tiempo, el NDVI, diámetro del tallo, altura de la planta, y prolina podrían ser de ayuda solo si los valores  $\beta$  están dentro de los rangos mostrados en la tabla. La distinción entre niveles de sequía ligera y sin sequía (suelos regados con 80 y 100% CC) podría establecerse únicamente mediante el monitoreo de la fotosíntesis y NDVI. Por otro lado, la transpiración, la conductancia estomática, diámetro del tallo, peso y altura podrían ser útiles para distinguir entre estos niveles de agua, si los valores  $\beta$  obtenidos están dentro de los rangos presentados en la tabla.

Cuadro 19. Resumen sobre la detección del estrés por sequía de acuerdo con los intervalos de B obtenidos para cada variable.

Tratamiento	Altura de la planta	Peso de la planta	Diámetro del tallo	Fotosíntesis	Transpiración	Conductancia estomática	NDVI	Prolina
40% CC	[4.7550-4.7971)	PD	[0.1421-0.1499)	PD	PD	PD	[0.0381-0.0398)	NP
60% CC	NP	PD	(0.1610-0.1692]	PD	PD	PD	(0.0398-0.0414]	(0.0701-0.0778]
80% CC	(5.2846-5.4835]	(0.7339-0.7356]	(0.1928-0.1962]	PD	(30.3107-31.8185]	(76.3921-79.0922]	PD	NP
100% CC	[4.9215-5.1129)	(0.7356-0.7431]	[0.1706-0.1720)	PD	[27.2207-28.045)	[69.4141-71.0978)	PD	[0.0495-0.0526)

PD: Condición de sequía posible de distinguir. NP: Condición de sequía no posible de distinguir.

Aunado a lo anterior, se verificaron los supuestos de normalidad y varianza constante para determinar la calidad de los modelos lineales obtenidos mediante regresión lineal simple. Se aplicó una prueba de hipótesis de normalidad de los residuos mediante la prueba de Shapiro-Wilk (Cuadro 20), y se obtuvo una gráfica

Q-Q Plot para evaluar la normal para los valores residuales de regresiones lineales (Figura 29).

De acuerdo con los resultados obtenidos, se acepta la hipótesis de normalidad para los residuos del modelo de regresión lineal para cada una de las variables involucradas ( $p>0.05$ ), excepto para la conductancia estomática para el tratamiento de sequía moderada (Cuadro 20). Se observó una tendencia de distribución normal de los residuos para la altura de la planta, diámetro del tallo, peso de la planta, fotosíntesis, transpiración, conductancia estomática, NDVI, y prolina (Figura 29).

Por otro lado, la dispersión de los residuos sigue un patrón aleatorio (datos no mostrados), es decir, la diferencia entre los datos obtenidos mediante el modelo de regresión y los valores reales son aleatorios y no crecientes. Las regresiones lineales anteriores sugieren que utilizando la estimación por intervalos del parámetro  $\beta$  de la regresión lineal, con un cierto intervalo de confianza, se podría calcular el estado de riego de las plantas de *C. annuum* midiendo los parámetros morfológicos, fisiológicos y bioquímico estudiados.

Cuadro 20. Valores de  $p$  para la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk con  $\alpha=0,05$ , utilizando residuos del modelo de regresión lineal para cada una de las variables involucradas.

Tratamiento	Valor de $p$							
	Altura de la planta	Diámetro del tallo	Peso de la planta	Fotosíntesis	Transpiración	Conductancia estomática	NDVI	Prolina
40% CC	0.2525	0.1808	0.7205	0.2983	0.6216	0.4133	0.3766	0.6062
60% CC	0.2463	0.2200	0.6637	0.5271	0.3744	<u>0.0349</u>	0.114	0.5162
80% CC	0.2724	0.1718	0.6578	0.6981	0.9996	0.1898	0.6381	0.9217
100% CC	0.2340	0.1603	0.3412	0.2405	0.2353	0.2723	0.2339	0.8567

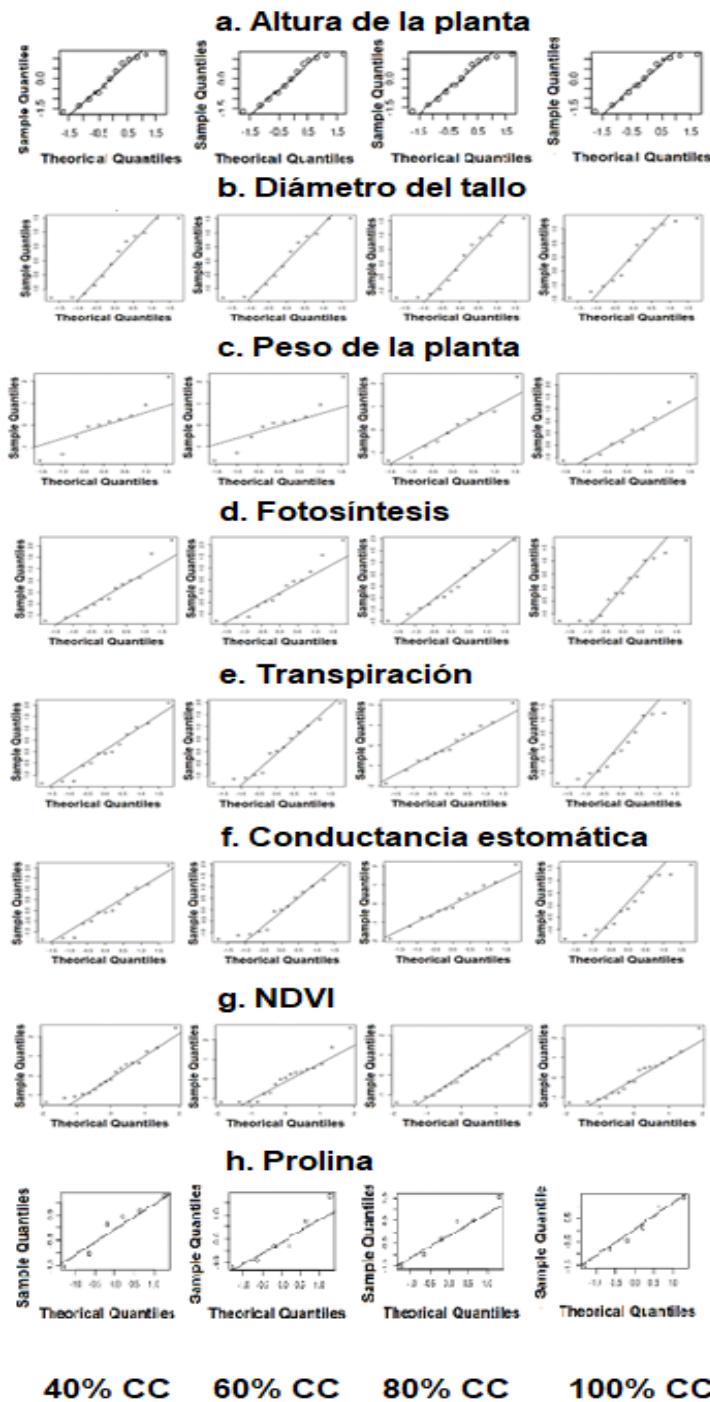


Figura 29. Gráfica Q-Q normal para residuos de regresiones lineales utilizando la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk. a. Altura de la planta; b. Diámetro del tallo; c. Peso de la planta; d. Fotosíntesis; e. Transpiración; f. Conductancia estomática; g. NDVI: índice de vegetación de diferencia normalizada; h. Prolina.

Algunas investigaciones se han dirigido a evaluar el estado hídrico mediante el monitoreo de las respuestas fisiológicas de las plantas e integrarlas en modelos matemáticos para clasificar o distinguir el estrés por sequía. Fang et al. (2023) reportaron un modelo de árbol de detección y regresión simple (CART), donde incluyeron temperatura del aire, diferencia de temperatura de las hojas y el aire, y déficit de presión de vapor para clasificar el estado de sequía en tomate (*Solanum lycopersicum*) en condiciones de riego adecuado y deficiencia hídrica por no suministro de riego en plántulas (crecimiento vegetativo) y plantas adultas (floración), en experimentos independientes.

Este modelo permitió la clasificación de estrés bajo, medio y alto para plantas en crecimiento vegetativo y floración en experimentos independientes. Sin embargo, este estudio no evaluó el modelo CART para una sequía permanente durante ambas etapas fenológicas, y tampoco lo llevó durante la etapa de fructificación. Tu et al. (2022) y Kuo et al. (2023) propusieron un modelo basado en una red neuronal convolucional (CNN) con Kernel unidimensional, para determinar el estado temprano de estrés por sequía de plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum*) a partir del estado fisiológico de las plantas, obteniendo espectros de reflectancia NIR, y datos de temperatura foliar, tasa de asimilación, tasa de transpiración y conductancia estomática, los cuales fueron medidos a partir del día siguiente de la imposición de los tratamientos (sin riego y riego regular) y durante 12 días.

El método propuesto por estos investigadores es prometedor en la determinación del estado de estrés por sequía en plántulas de tomate; sin embargo, no se consideran los estadios fenológicos de diferentes cultivos u otras condiciones de déficit hídrico.

Además de haberse utilizado algunas de las variables fisiológicas de las plantas para modelar el estrés por sequía, también se han utilizado para determinar genotipos de plantas tolerantes a sequía. En este sentido, Yan et al. (2020) estimaron coeficientes de tolerancia a sequía en plantas de soja sometidas a dos condiciones de riego, bien irrigadas y 50% CC, durante las etapas de madurez fisiológica vegetativa-floración y floración-primera de las vainas, y utilizaron regresiones lineales para determinar genotipos de soja tolerantes a sequía.

Asimismo, Murigneux et al. (2016) establecieron un método para determinar la tolerancia al estrés por sequía de plantas de maíz a través de un índice de estrés, y utilizaron modelos de regresión lineal para establecer la relación entre este índice y el rendimiento de grano.

## **9.2. Estrés por salinidad**

El estrés salino es un tipo de estrés abiótico que puede causar daños graves en las plantas, al inducir estrés iónico, osmótico y oxidativo, lo que desencadena diferentes respuestas morfológicas, fisiológicas, bioquímicas y moleculares (Dzinyela et al., 2023; Rattan et al., 2022). El efecto de la salinidad sobre las plantas depende de la especie y variedad de las plantas, etapa fenológica del cultivo, concentración de la sal, y tiempo de exposición a la salinidad (Aghighi Shahverdi et al., 2018; Kamran et al., 2020; Machado & Serralheiro, 2017). A continuación se presentan las respuestas morfológicas, fisiológicas y bioquímicas en plantas de chile jalapeño expuestas semanalmente al estrés salino durante 11 semanas.

### **9.2.1. Determinación de las respuestas morfo-fisiológicas al estrés por salinidad en plantas de chile jalapeño**

Se determinó el efecto de la aplicación semanal de 100 mL de soluciones de NaCl a 50, 75 y 100 mM en plantas de chile jalapeño, a través del monitoreo de sus respuestas morfológicas (altura, diámetro del tallo, número de hojas y número frutos) y fisiológicas (fotosíntesis, transpiración, conductancia estomática, déficit de presión de vapor y NDVI) durante 11 semanas de aplicación de los tratamientos, las cuales se describen en esta sección.

#### **a. *Respuestas morfológicas***

En las Figura 30 y 31 se presentan los resultados obtenidos para la altura y el diámetro del tallo de plantas tratadas con soluciones de NaCl. Se registró el crecimiento de las plantas y el aumento del grosor del tallo, siendo mayor en plantas que no tuvieron exposición al estrés salino, y con una tendencia a ser menor para la concentración de NaCl más alta, salvo para la altura durante la última semana de monitoreo, donde se registró una altura similar a la de las plantas sin exposición a salinidad.

Una de las respuestas adaptativas de las plantas al estrés salino es la modulación del crecimiento, que se relaciona con la limitación en la absorción de agua y nutrientes, la fotosíntesis, la elongación y división celular (van Zelm et al., 2020). Se conoce que la exposición al estrés salino influye negativamente sobre características morfológicas de crecimiento y desarrollo de las plantas a lo largo de su ciclo fenológico (Behera et al., 2022), como es el caso de la altura y el diámetro, quienes suelen reducirse con el incremento de la concentración salina (Pandit et al., 2024).

En ese sentido, se ha reportado que la aplicación de NaCl (50, 100 y 150 mM) influye de manera significativa sobre la altura de plantas de zanahoria en diferentes etapas de crecimiento, donde se observó un incremento de la altura durante el tiempo monitoreado (36-103 días después de la siembra), siendo mayor en las plantas donde no se aplicaron los tratamientos salinos y menor para la concentración de sal más alta (Jahan et al., 2020). Por otro lado, Yilmaz et al. (2004) reportan que el incremento de la concentración de NaCl disminuyó la longitud del hipocotilo y del brote en plantas de pimiento dulce.

Aunque con los resultados de este estudio no es tan marcada la diferencia entre el efecto de los tratamientos salinos y el control sobre el crecimiento de las plantas de chile jalapeño, al igual que en los reportes, se observa la tendencia de la altura a ser menor en las plantas expuestas a la salinidad; y en el caso del diámetro del tallo, se observa un mayor incremento de esta variable en plantas sin aplicación de NaCl, lo que puede deberse a la disminución de la disponibilidad de nutrientes al ser usados por las plantas para el ajuste osmótico tras la exposición a la salinidad (van Zelm et al., 2020).

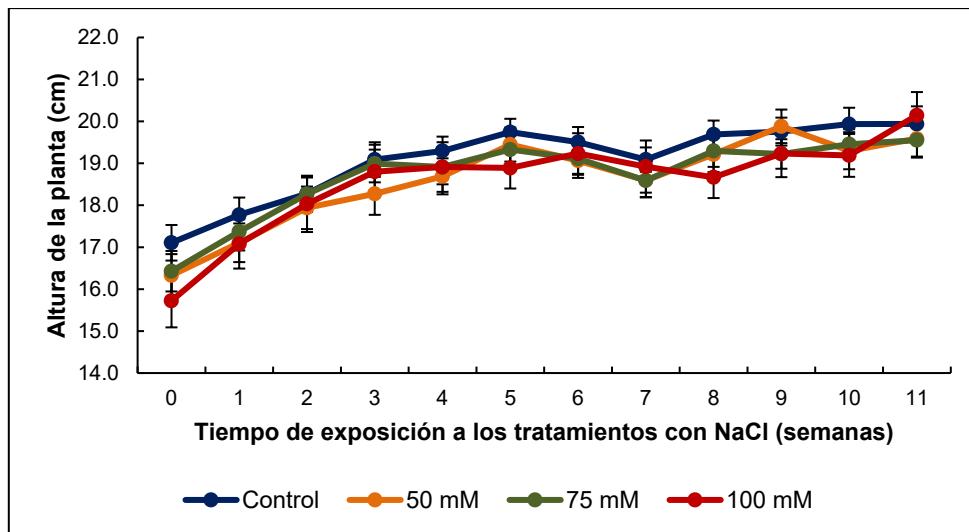


Figura 30. Efecto de NaCl 50, 75 y 100 mM sobre la altura de *C. annuum*. Los resultados se expresan como la media ± el error estándar (n=18 para control, NaCl 50 y 75 mM; n=9 para NaCl 100 mM).

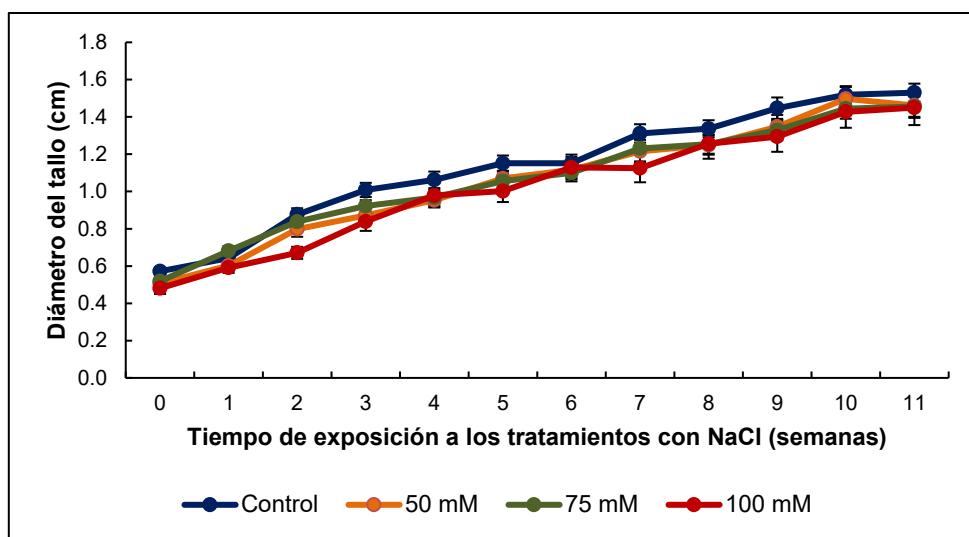


Figura 31. Efecto de NaCl 50, 75 y 100 mM sobre el diámetro del tallo de *C. annuum*. Los resultados se expresan como la media ± el error estándar (n=18 para control, NaCl 50 y 75 mM; n=9 para NaCl 100 mM).

En la Figura 32 se registra el número promedio de flores por planta tratada. Durante las 11 semanas de exposición a los tratamientos salinos, se observó que la exposición a NaCl 100 mM provocó un retraso en el inicio de la floración, en comparación con los demás tratamientos. Además, se registró el incremento en el número de flores, siendo mayor para las plantas sin exposición a NaCl y menor para las plantas tratadas con la concentración de NaCl más alta. En las plantas tratadas con 50 y 75 mM se observó un comportamiento similar hasta la semana 8 de

exposición a las soluciones salinas, tiempo después del cual se presentó un menor número de flores con NaCl 50 mM.

En la Figura 33 se presenta el número promedio de frutos por planta. Se observó el aumento del número de chiles, el cual fue similar durante las primeras cinco semanas de exposición a los tratamientos salinos. La aplicación de NaCl 100 mM promovió un mayor incremento en el número de frutos entre la sexta y novena semana de tratamientos, mientras que en la décima semana fue igual al control.

Por otro lado, el menor número de chiles se registró en plantas tratadas con NaCl 50 mM desde la sexta semana y hasta el final de la aplicación de los tratamientos. Al finalizar el tiempo de exposición a la salinidad, las plantas sin tratamiento tuvieron un mayor número promedio de frutos.

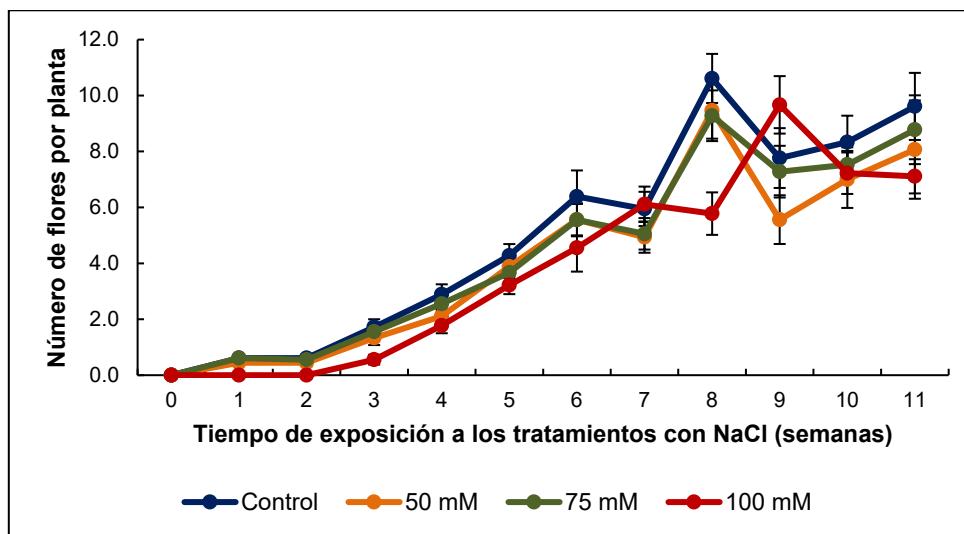


Figura 32. Efecto de NaCl 50, 75 y 100 mM sobre el número de flores por planta de *C. annuum*. Los resultados se expresan como la media ± el error estándar (n=18 para control, NaCl 50 y 75 mM; n=9 para NaCl 100 mM).

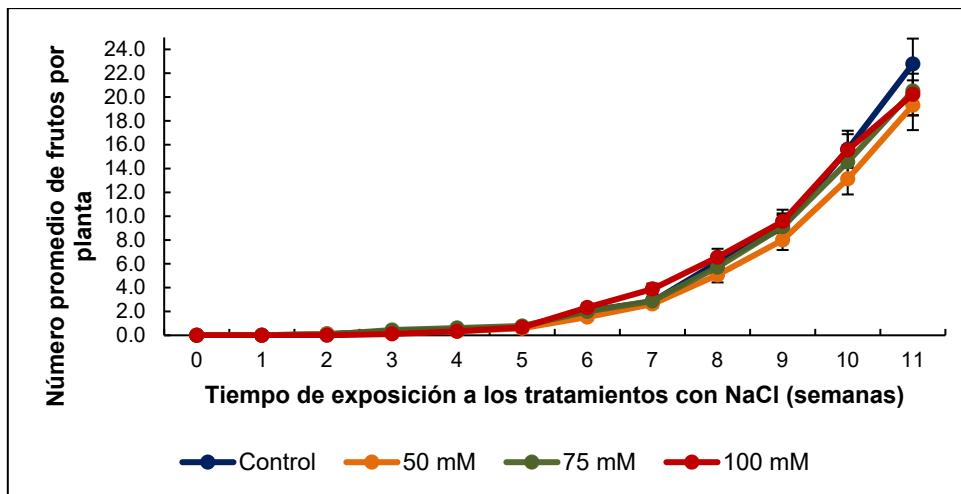


Figura 33. Efecto de NaCl 50, 75 y 100 mM sobre el número de frutos por planta de *C. annuum*. Los resultados se expresan como la media  $\pm$  el error estándar ( $n=18$  para control, NaCl 50 y 75 mM;  $n=9$  para NaCl 100 mM).

A continuación se describe el efecto de los tratamientos con NaCl sobre las variables morfológicas previamente mencionadas, al finalizar las 11 semanas de exposición a la salinidad (Figura 34). Aunque durante el tiempo en que se monitorearon las respuestas morfológicas de las plantas al estrés salino se observó que la altura y el diámetro del tallo fueron mayores en plantas sin exposición a NaCl, y que la aplicación de NaCl a 100 mM indujo los valores más bajos, para la última semana monitoreada no se observaron diferencias significativas entre tratamientos sobre estas variables ( $p \geq 0.39$  para la altura y  $p \geq 0.32$  para el diámetro del tallo;  $\alpha=0.2$ ) (Figura 34, a y b).

Por otro lado, aunque el número de frutos fue mayor para las plantas no expuestas a la salinidad, tampoco se registraron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos para esta variable ( $p \geq 0.25$ ,  $\alpha=0.2$ ) (Figura 34, d). En relación con el número de flores, se evidenció la disminución significativa de esta variable con la aplicación de NaCl 100 mM, en comparación con el control ( $p=0.076$ ,  $\alpha=0.1$ ) (Figura 34, c).

Resultados similares fueron obtenidos por Sun et al. (2024), quienes reportaron que el efecto de la exposición de plántulas de tomate a NaCl 150 mM fue estadísticamente igual al control ( $p < 0.05$ ) sobre el número de frutos en plántulas de tomate. Además, observaron que la cantidad de frutos disminuyó ante el aumento de la concentración de NaCl, este efecto fue estadísticamente significativo para los

tratamientos con NaCl a 100, 150 y 200 mM, mientras que no hubo diferencias entre la aplicación de NaCl a 50 mM en comparación con el control ( $p<0.05$ ); lo que sugiere la alteración de procesos fisiológicos en las plantas tratadas. También, en concordancia con los resultados obtenidos para el número de flores, el efecto de la aplicación de tratamientos salinos de 4, 6, 8, y 10  $dS^*m^{-1}$  (equivalentes a NaCl 40, 60, 80 y 100 mM) fue estadísticamente igual sobre el número de flores de azafrán (*Crocus sativus* L.).

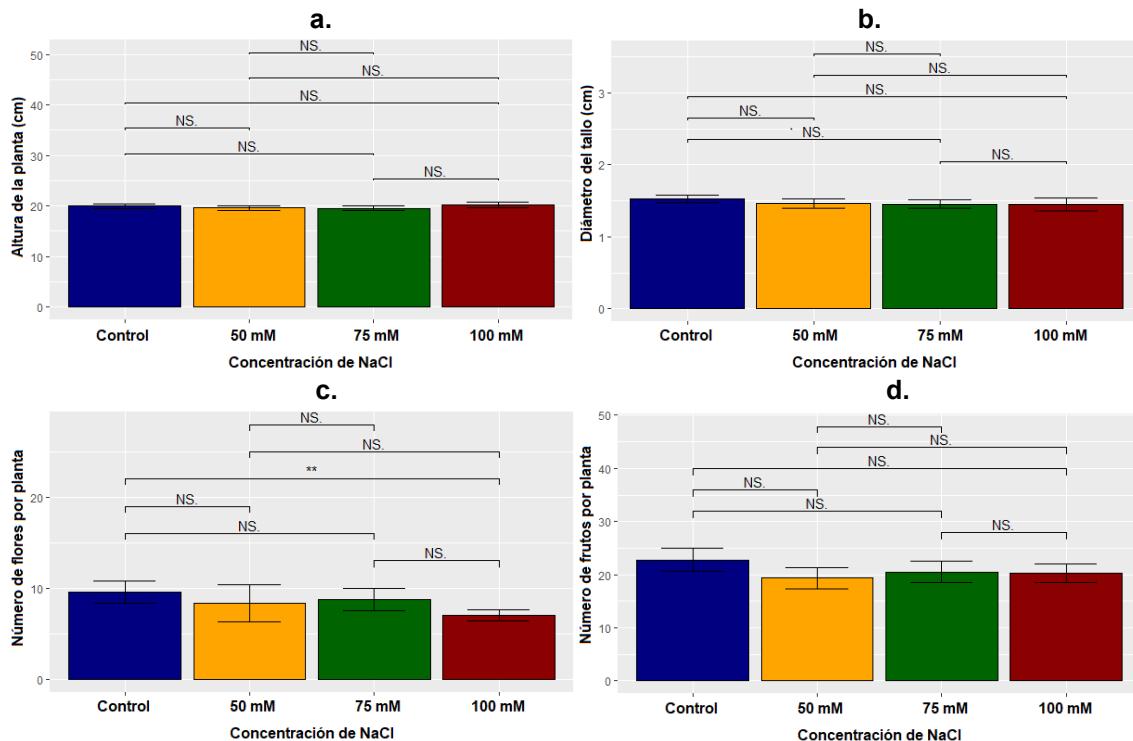


Figura 34. Efecto de tratamientos con NaCl sobre respuestas morfológicas en *C. annuum*. A. Altura de la planta; b. Diámetro del tallo; c. Número de flores por planta; d. Número de frutos por planta. Los resultados se expresan como la media  $\pm$  el error estándar. Nivel de significancia ( $\alpha$ ) \*\*\*\*=0.001, \*\*\*=0.005, \*\*=0.01, \*=0.02, NS=No significativo.

### b. Respuestas fisiológicas

En la Figura 35 se presentan los valores de fotosíntesis determinados en las plantas expuestas a las soluciones de NaCl, desde la cuarta semana de aplicación de los tratamientos. No se observó una respuesta permanente de las plantas frente a ningún tratamiento, los valores de fotosíntesis fluctuaron de una semana a otra durante la exposición a las soluciones salinas.

Desde la primera semana de monitoreo hasta la última, se observó una disminución de los valores de fotosíntesis, siendo mayor este decremento para las plantas tratadas con NaCl 100 mM, pasando de 103.5 a 73.24  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  (29.24% menos); el menor cambio en el valor de esta variable lo indujo el tratamiento de NaCl 50 mM, con una disminución del 14.79% respecto al valor inicial.

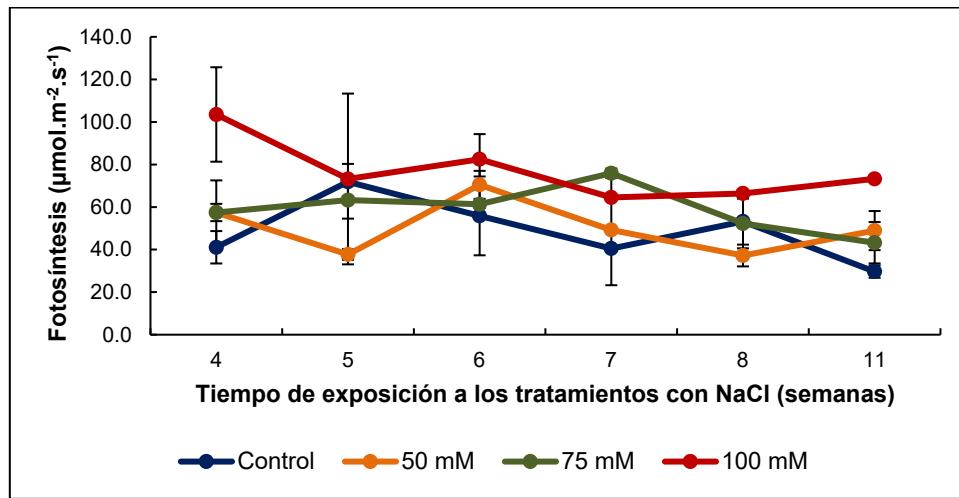


Figura 35. Efecto de NaCl 50, 75 y 100 mM sobre la fotosíntesis en *C. annuum*. Los resultados se expresan como la media  $\pm$  el error estándar ( $n=2$  plantas por tratamiento).

De manera similar que para la fotosíntesis, los valores de transpiración para las plantas tratadas mostraron fluctuaciones en el tiempo (Figura 36). La aplicación de NaCl 100 mM promovió la disminución de la transpiración en un 54.98% de la semana 4 a la 11, pasando de 167.82 a 78.56  $\text{mg.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ; mientras que con NaCl 75 y 50 mM, los valores de la transpiración tendieron a aumentar desde la sexta y séptima semana de aplicación de los tratamientos, respectivamente, similar al comportamiento de las plantas sin tratamiento.

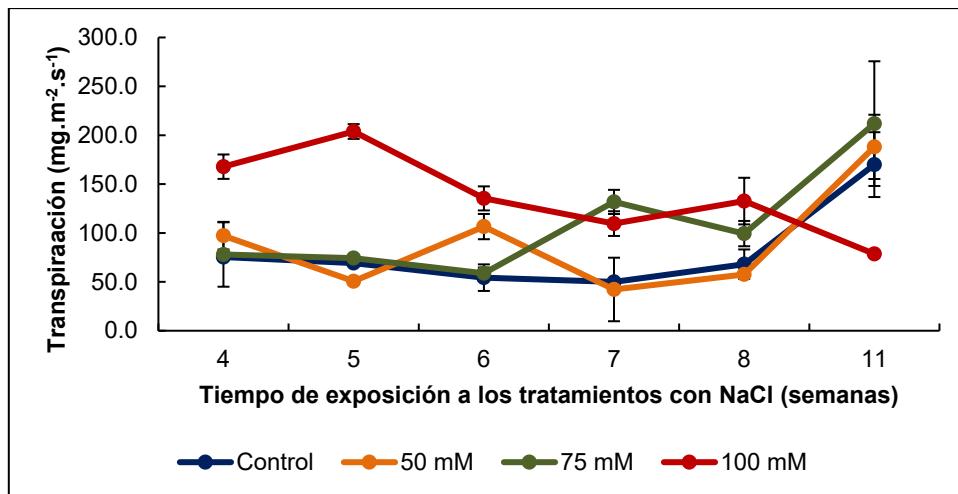


Figura 36. Efecto de NaCl 50, 75 y 100 mM sobre la transpiración en *C. annuum*. Los resultados se expresan como la media  $\pm$  el error estándar (n=2 plantas por tratamiento).

El comportamiento de la conductancia estomática para las plantas de chile jalapeño tratadas con NaCl se muestra en la Figura 37. Los valores de esta variable cambiaron con el tiempo con los tratamientos salinos mientras que para el control tendió a ser constante, solamente incrementando para la semana 7. La aplicación de NaCl 100 mM y 50 mM promovieron un comportamiento similar de la conductancia estomática, la cual disminuyó entre la semana 4 y 5, aumentó en la semana 6, y desde ese momento y hasta la semana 11, esta variable presentó una disminución de 58.05% y 54.87%, respectivamente, alcanzando valores similares que para el control. Por otro lado, el tratamiento con NaCl 75 mM presentó valores de conductancia estomática similares al control en las semanas 4, 5, 6 y 8; mientras que este tratamiento indujo un incremento para las semanas 7 y 11.

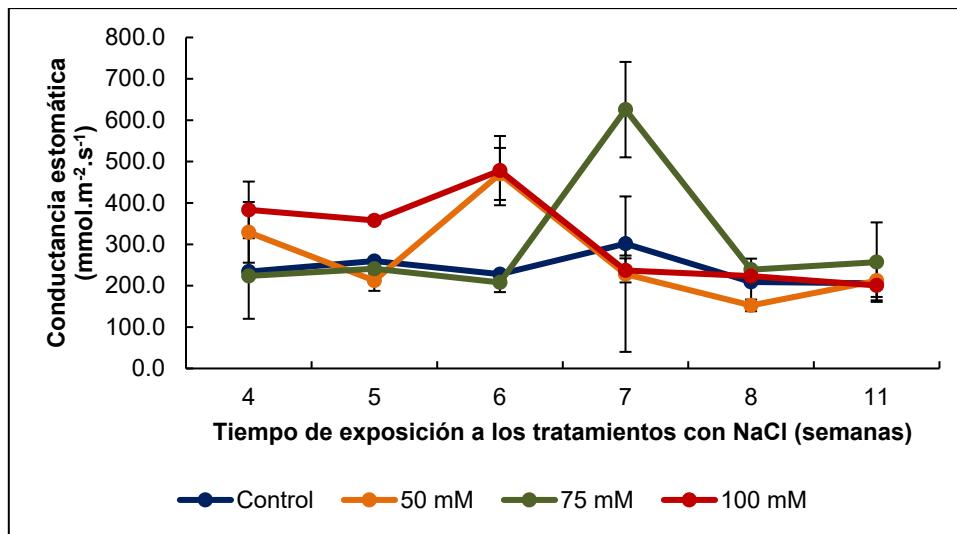


Figura 37. Efecto de NaCl 50, 75 y 100 mM sobre la conductancia estomática en *C. annuum*. Los resultados se expresan como la media  $\pm$  el error estándar (n=2 plantas por tratamiento).

Los resultados de déficit de presión de vapor (VPD) obtenidos para las plantas de chile jalapeño tratadas con NaCl se muestran en la Figura 38. Los valores más altos de VPD fueron obtenidos para las plantas tratadas con NaCl 100 mM, sin embargo, se observó que desde la semana 5 los valores de esta variable disminuyeron en un 70.75% para la semana 11, siendo menor en ese momento que los valores obtenidos para los otros tratamientos y el control.

El comportamiento del VPD para las plantas tratadas con NaCl 50 y 75 mM fue similar al de las plantas sin tratar, sin embargo, se observó una tendencia al incremento ante el aumento de la concentración de NaCl. Finalmente, durante la última semana de tratamiento, los valores de VPD fueron mayores para NaCl a 75 y 50 mM, mientras que para NaCl 100 mM fue menor inclusive que el control.

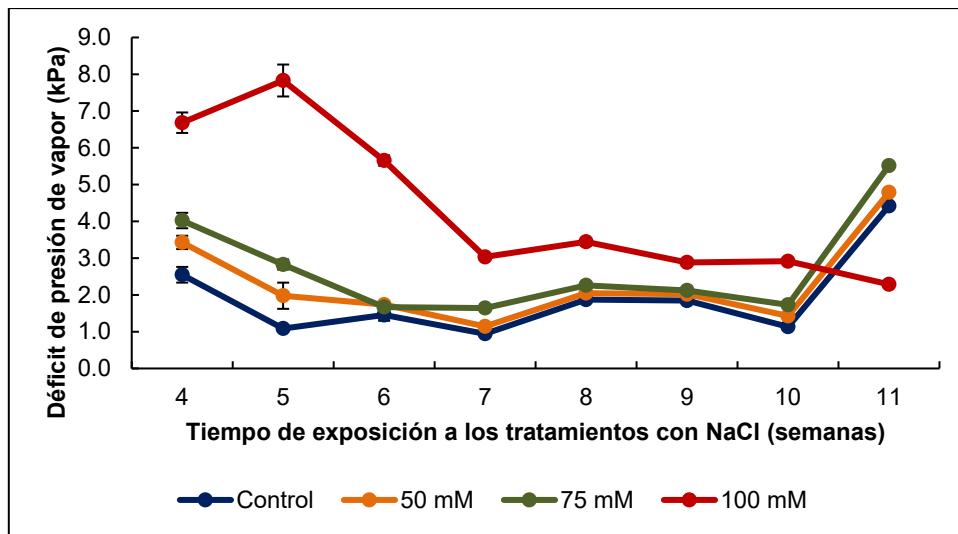


Figura 38. Efecto de NaCl 50, 75 y 100 mM sobre el déficit de presión de vapor en *C. annuum*. Los resultados se expresan como la media ± el error estándar (n=2 plantas por tratamiento).

El Índice de Vegetación de Diferencia Normalizada (NDVI) obtenido para las plantas de chile jalapeño tratadas con NaCl durante 11 semanas se presentan en la Figura 39. Se observaron fluctuaciones del NDVI para todas las plantas tratadas, similar a las del control, sin embargo, se observaron mayores cambios con el tratamiento de NaCl 100 mM.

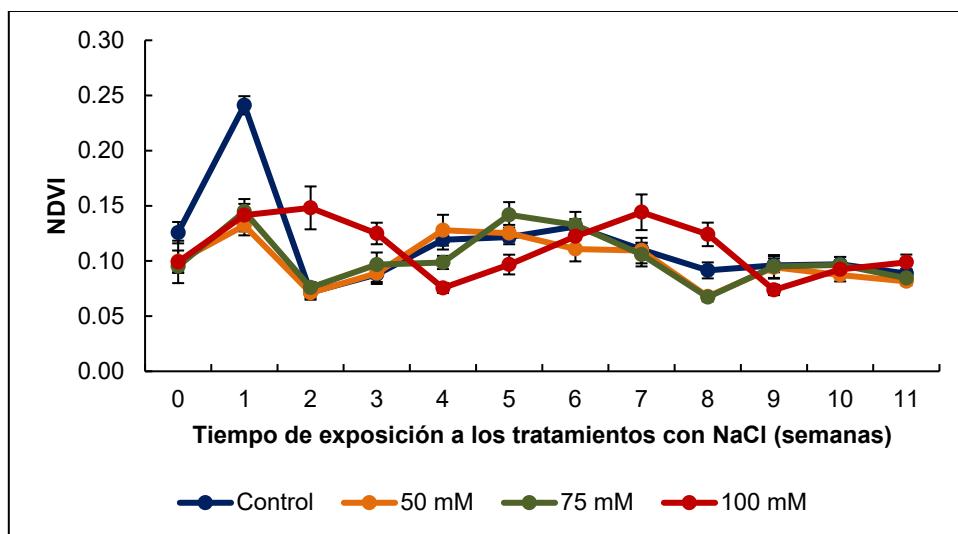


Figura 39. Efecto de NaCl 50, 75 y 100 mM sobre NDVI en *C. annuum*. Los resultados se expresan como la media ± el error estándar (n=10 plantas por el control, 50 y 75 mM; n=9 para 100 mM). NDVI: Índice de Vegetación de Diferencia Normalizada.

A continuación se presentan los resultados obtenidos al finalizar las 11 semanas de aplicación de los tratamientos salinos sobre respuestas fisiológicas de las plantas (Figura 40). Aunque se encontraron valores de fotosíntesis más altos para los

tratamientos salinos, el efecto de la aplicación de NaCl 50 y 75 mM sobre esta variable fue estadísticamente igual al control ( $0.14 \leq p \leq 0.18$ ,  $\alpha=0.2$ ); no así para la aplicación de NaCl cuyo efecto resultó significativamente diferente al control ( $p=0.056$ ,  $\alpha=0.1$ ) y a los demás tratamientos salinos (Figura 40, a). Por otra parte, aunque se observó una mayor transpiración y conductancia estomática para las plantas tratadas con NaCl 50 y 75 mM, el efecto de estas soluciones salinas no presentó diferencias significativas con el control; con la aplicación de NaCl 100 mM se presentó un efecto contrario a los demás tratamientos salinos, al inducir la disminución de estas respuestas fisiológicas, aunque dicho efecto resultó estadísticamente igual al control ( $p \geq 0.21$ ,  $\alpha=0.2$ ) (Figura 40, b y c).

Con relación al déficit de presión de vapor, todos los tratamientos presentaron un efecto estadísticamente diferente entre sí ( $p \leq 0.0013$ ,  $\alpha=0.01$ ) y con respecto al control ( $0.0012 \leq p \leq 0.0092$ ,  $\alpha=0.01$ ). Al igual que para la transpiración y la conductancia estomática, ante el aumento de la concentración de NaCl se evidenció un incremento en el valor del déficit de presión de vapor, sin embargo, para la concentración de NaCl más alta (100 mM) se encontraron valores de esta respuesta por debajo que el control (Figura 40, d).

Finalmente, el menor valor de NDVI alcanzado fue para las plantas expuestas a NaCl 50 mM mientras que el mayor valor fue obtenido para plantas tratadas con NaCl a 100 mM, en comparación con las plantas sin exposición a la salinidad; sin embargo, este efecto fue significativo únicamente para el tratamiento salino de menor concentración ( $p=0.19$ ,  $\alpha=0.2$ ). Tampoco se evidenció efecto significativo entre el tratamiento salino a 75 mM y el control ( $p \geq 0.05$ ), pero sí entre este tratamiento y el de mayor concentración de sal ( $p=0.15$ ,  $\alpha=0.2$ ).

El efecto de las concentraciones de NaCl evaluadas sobre la mayoría de las respuestas fisiológicas al finalizar la exposición a los tratamientos en plantas de chile jalapeño es contrastante con la información encontrada en la literatura. Se ha reportado que el estrés salino limita el intercambio gaseoso de las plantas debido a que induce el cierre de los estomas y la disminución de la cantidad de CO<sub>2</sub> a las

hojas, inhibiendo la fotosíntesis, transpiración y conductancia estomática (Azuma et al., 2010; Butt et al., 2021; van Zelm et al., 2020).

Azuma et al. (2010) reportaron la disminución significativa de la fotosíntesis, conductancia estomática y transpiración en plantas de *Capsicum annuum* L. expuestas a tratamientos salinos (NaCl a 50 y 100 mM) durante 21 días, en comparación con el control; sin embargo, el efecto de los tratamientos salinos resultó estadísticamente igual sobre la conductancia estomática y la transpiración ( $p<0.05$ ), como ocurrió en nuestra investigación (Figura 40, b y c).

De igual forma, Saqib et al. (2014) observaron un efecto significativo de la salinidad en variedades de *C. annuum* sobre la fotosíntesis, la transpiración y la conductancia estomática, donde con el incremento de la concentración de NaCl (40, 80 y 120 mM) indujo la disminución de estas variables. También, Butt et al. (2021) reportaron un efecto negativo del incremento de la salinidad (NaCl 0-70 mM) sobre estas variables fisiológicas en *C. annuum* después de una semana de aplicados los tratamientos; sin embargo, el efecto los tratamientos salinos a 50 y 70 mM sobre la fotosíntesis y la conductancia estomática resultaron significativamente iguales mM (Butt et al., 2021), del mismo modo que para nuestros tratamientos con NaCl 50 y 75 mM. Además, en plantas de pimiento tratadas con NaCl 70 mM se observó la disminución de la transpiración y conductancia estomática entre los días 4 y 14 después de la exposición a la sal, además fue menor que en plantas sin exposición al estrés (López-Serrano et al., 2021).

Las diferencias entre los resultados obtenidos en este estudio y los reportados pueden deberse a las condiciones en que se realizó la exposición a los tratamientos salinos y al tiempo en el que se realiza nuestro último monitoreo, indicando una posible tolerancia de las plantas de chile jalapeño (*C. annuum* L., variedad M.) a la salinidad bajo las condiciones evaluadas. Lo anterior puede deberse a que estas plantas evitaron los efectos negativos de las soluciones salinas mediante la exclusión de  $\text{Na}^+$ , el mantenimiento de niveles óptimos de  $\text{K}^+$  y  $\text{Ca}^{2+}$ , lo que pudo resultar en la estabilización de la maquinaria fotosintética, manteniendo su favorable

funcionamiento fisiológico; esto puede estar en relación con el efecto no significativo de los tratamientos con el crecimiento de las plantas Figura 34, a y b.

Por otro lado, los valores de transpiración se relacionan con los niveles de déficit de presión de vapor obtenidos (Figura 34, b y d), donde, niveles altos de VPD representan una mayor transpiración de agua de la que pueden absorber, promoviendo estrés hídrico. Lo anterior puede deberse al estrés osmótico que ocurre con la acumulación de sal en la zona de la raíz, dificultando la absorción de agua (Abdelkader et al., 2024).

De acuerdo con la literatura, en las plantas, VPD es la diferencia entre la presión de vapor dentro de la hoja y la presión de vapor del aire, siendo la fuerza impulsora de la tasa de transpiración. El incremento de VPD impacta negativamente sobre la tasa de asimilación de CO<sub>2</sub>, principalmente durante el inicio del crecimiento de las plantas; sin embargo, ese impacto se compensa con la actividad fisiológica sostenida de las plantas durante la última temporada de crecimiento (Sinclair et al., 2017).

Con relación al NDVI, Lima et al. (2023) registraron la disminución significativa de esta variable en plantas de pimiento con la aplicación de soluciones salinas a 75 y 100%, mientras que fue estadísticamente igual a 50% en comparación con el control; los autores sugieren a NDVI como un indicador para la detección del estrés salino. En plantas de guisante tratadas con 100, 200 y 400 mM de NaCl, se observó la disminución de los valores de NDVI ante el aumento de los niveles de salinidad (Sukhova et al., 2023). La disminución de esta variable está asociada con la reducción del crecimiento de las plantas; sin embargo, se ha reportado que NDVI es un indicador ambiguo porque también puede depender de la biomasa, área foliar, cobertura vegetal, contenido de nitrógeno y clorofila (Zhang et al., 2011).

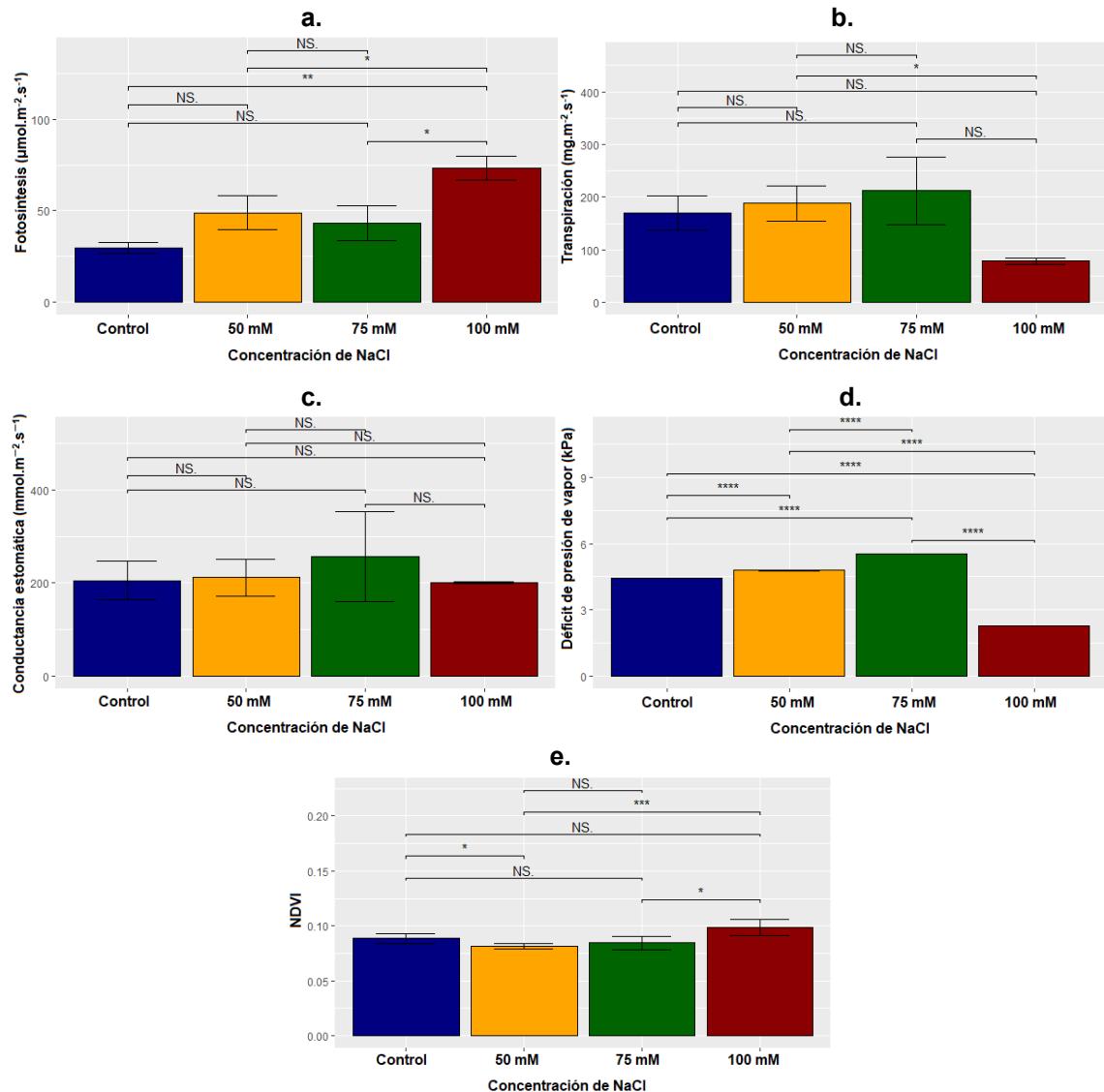


Figura 40. Efecto de la aplicación de NaCl sobre las respuestas fisiológicas de plantas de *C. annuum* a. Fotosíntesis; b. Transpiración; c. Conductancia estomática; d. Déficit de presión de vapor; e. Índice de vegetación de diferencia normalizada (NDVI). Nivel de significancia ( $\alpha$ ) \*\*\*\*=0.01, \*\*\*=0.05, \*\*=0.10, \*=0.2, NS=No significativo.

### 9.2.2. Determinación de las respuestas bioquímicas al estrés por salinidad en plantas de chile jalapeño

Se evaluó el efecto de la aplicación semanal de NaCl 50, 75 y 100 mM sobre las respuestas bioquímicas de plantas de chile jalapeño a través del monitoreo del contenido de prolina (Figura 41) y la actividad enzimática de CAT, SOD, PAL, y APX (Figuras 42-45).

El contenido de prolina presentó variaciones durante el tiempo de monitoreo para todos los tratamientos y el control (Figura 41). Se observó una disminución de la

concentración de prolina para la tercera semana de aplicación de los tratamientos; para este fue mayor para las plantas tratadas con NaCl 100 mM. La mayor cantidad de prolina se observó para la séptima semana de aplicación de los tratamientos, siendo mayor en plantas tratadas con NaCl 75 mM y menor para las tratadas con 100 mM.

Durante las últimas dos semanas se observaron los menores valores de prolina, siendo el tratamiento con NaCl 75 mM quien promovió una acumulación mayor y similar al control, mientras que la menor acumulación fue inducida por la aplicación de NaCl 100 mM.

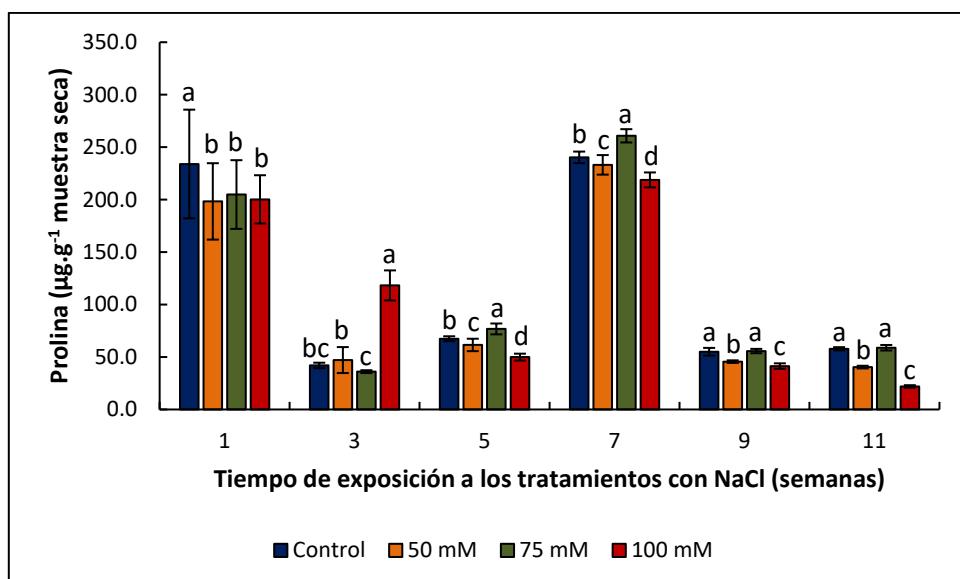


Figura 41. Efecto de la aplicación de NaCl sobre el contenido de prolina en plantas de chile jalapeño. Los resultados se presentan como la media  $\pm$  la desviación estándar. Las letras iguales para cada día de tratamiento representan que no hay diferencias estadísticamente significativas ( $\alpha=0.05$ ).

La actividad de CAT tuvo variaciones durante el tiempo monitoreado (Figura 42). Se observó un incremento de la actividad de esta enzima durante las primeras siete semanas de aplicación de NaCl 50 mM, tiempo después del cual CAT disminuyó su actividad hasta alcanzar los mismos valores que para el inicio del experimento. La actividad de CAT se vio menos afectada por la aplicación de NaCl 75 mM, aunque se mostraron variaciones, la tendencia fue a mantenerse estable, salvo para la última semana, donde fue menor que para los demás tratamientos. Por su parte, se registró la disminución de la actividad de CAT en la tercera semana de aplicación de NaCl 100 mM, y ésta tendió a ser constante para las semanas 7 y 9, sin embargo,

para la semana 5, CAT alcanzó la mayor actividad. Al finalizar la exposición de los tratamientos, la actividad de CAT fue estadísticamente similar a la de la primera semana y al control.

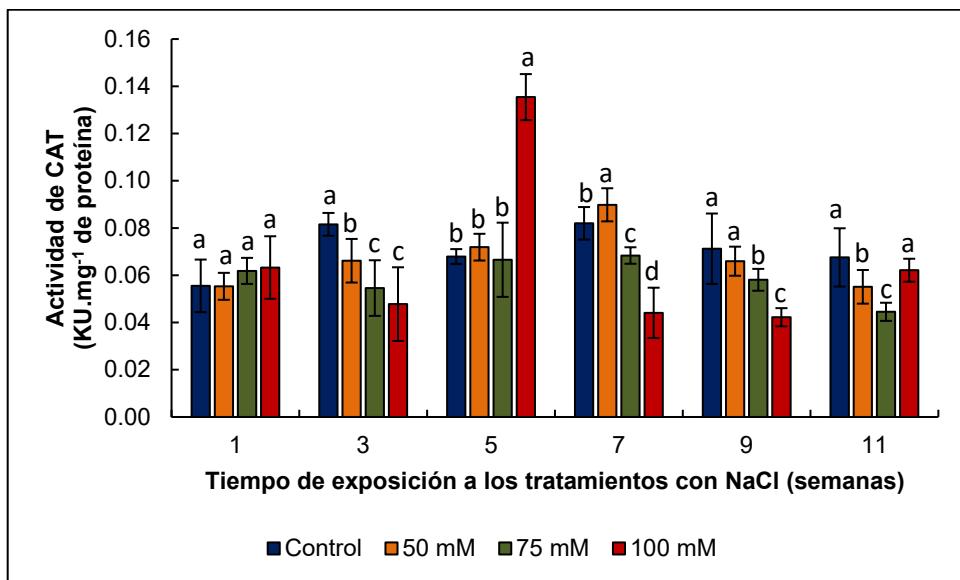


Figura 42. Efecto de la aplicación de NaCl sobre la actividad de catalasa (CAT) en plantas de chile jalapeño. Los resultados se presentan como la media  $\pm$  la desviación estándar. Las letras iguales para cada en cada día de tratamiento representan que no hay diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ( $\alpha=0.05$ ).

La actividad de SOD se vio afectada por la aplicación de NaCl 75 y 100 mM en la quinta semana de exposición a los tratamientos, siendo mayor en las plantas tratadas con la concentración de sal más alta. Al finalizar las 11 semanas de la aplicación de NaCl, se observó un incremento significativo en la actividad de esta enzima para las plantas tratadas con NaCl 75 y 50 mM, mientras que con 100 mM disminuyó, siendo igual al control (Figura 43).

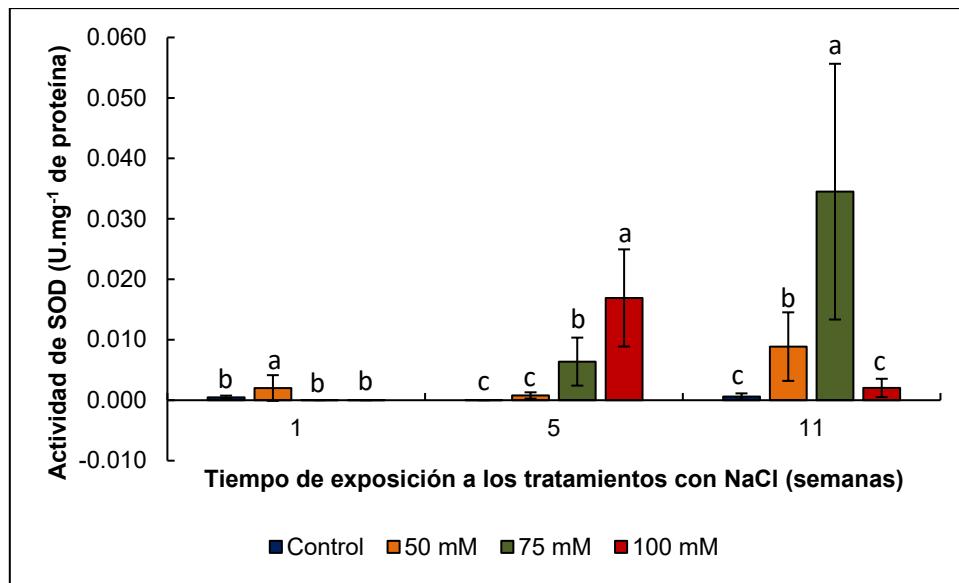


Figura 43. Efecto de la aplicación de NaCl sobre la actividad de superóxido dismutasa (SOD) en plantas de chile jalapeño. Los resultados se presentan como la media  $\pm$  la desviación estándar. Las letras iguales para cada día de tratamiento representan que no hay diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ( $\alpha=0.05$ ).

La actividad de PAL para las plantas tratadas se presenta en la Figura 44. Se incrementó la actividad de esta enzima hasta la quinta semana, donde se registraron los valores más altos, principalmente con el tratamiento de NaCl 100 mM y para 50 mM; mientras que para la séptima semana esta actividad tendió a mantenerse para el control y NaCl 50 y 75 mM, mientras que para 100 mM decayó significativamente. Las semanas posteriores a esta, la actividad de PAL disminuyó hasta alcanzar valores similares a los del inicio del experimento.

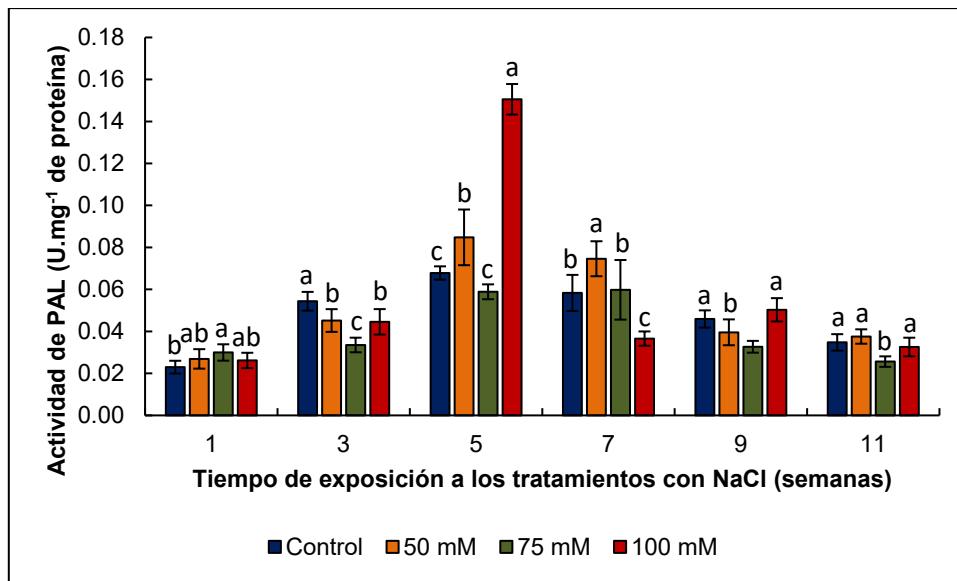


Figura 44. Efecto de la aplicación de NaCl sobre la actividad de fenilalanina amonio liasa (PAL) en plantas de chile jalapeño. Los resultados se presentan como la media  $\pm$  la desviación estándar. Las letras iguales para cada en cada día de tratamiento representan que no hay diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ( $\alpha=0.05$ ).

La actividad de APX en hojas de chile jalapeño tendió a mantenerse constante para todos los tratamientos, salvo durante la quinta semana de exposición a NaCl, cuando se observó el incremento de esta actividad enzimática, principalmente al aplicar NaCl 100 mM, siendo significativamente diferente a los demás tratamientos. Al finalizar el tiempo de exposición a los tratamientos, APX presentó una mayor actividad con la aplicación de la concentración de NaCl más alta.

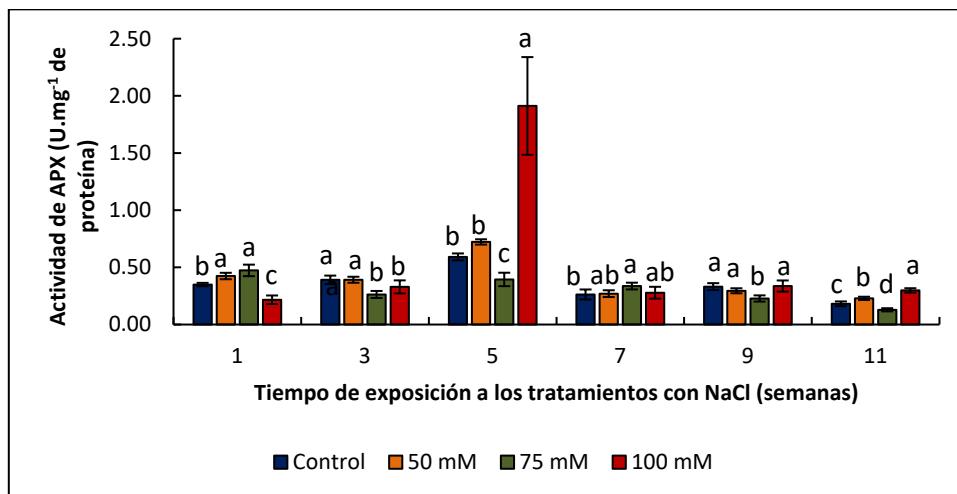


Figura 45. Efecto de la aplicación de NaCl sobre la actividad ascorbato peroxidasa (APX) en plantas de chile jalapeño. Los resultados se presentan como la media  $\pm$  la desviación estándar. Las letras iguales para cada en cada día de tratamiento representan que no hay diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ( $\alpha=0.05$ ).

A continuación se describirá el efecto de los tratamientos de NaCl aplicados en plantas de chile jalapeño sobre las respuestas bioquímicas, al final de su ciclo de cultivo (semana 11) (Figura 46). El contenido de prolina disminuyó significativamente en comparación con el control para las plantas tratadas con NaCl 50 y 100 mM ( $p<2.22*10^{-16}$ ), mientras que para NaCl 75 mM se presentó un ligero incremento de este osmolito ( $p=0.11$ ,  $\alpha=0.2$ ) (Figura 46, a).

La actividad de CAT fue menor en plantas tratadas con NaCl (Figura 46, b); se observó que el aumento de la concentración de sal promovió la disminución significativa de esta actividad enzimática para el caso de NaCl 50 y 75 mM ( $p\leq0.00095$ ), mientras que con 100 mM aunque la actividad fue menor que para el control ( $p=0.097$ ,  $\alpha=0.1$ ), resultó ser significativamente más alta que para los demás tratamientos ( $p\leq0.0016$ ).

La actividad de SOD fue significativamente más alta para todas las plantas tratadas (Figura 46, c). Se observó un incremento de esta actividad enzimática ante el aumento de la concentración de NaCl para el caso de 50 y 75 mM con respecto al control ( $p\leq2.5*10^{-10}$ ), mientras que para 100 mM fue significativamente más baja que para estos dos tratamientos ( $p\leq1.9*10^{-8}$ ).

Por otro lado, se observó un ligero incremento en la actividad de PAL en las plantas tratadas con NaCl 50 mM ( $p=0.13$ ,  $\alpha=0.2$ ), mientras que en las tratadas con NaCl 100 y 75 mM se presentó la disminución de esta actividad enzimática, siendo estadísticamente diferentes al control al tratar con NaCl 75 mM ( $p=4.2*10^{-5}$ ) (Figura 46, d). Finalmente, la actividad de APX se vio estadísticamente afectada con los tratamientos salinos (Figura 46, e), NaCl 100 y 50 mM promovieron el incremento significativo de esta actividad enzimática ( $p\geq0.0013$ ), siendo mayor para la concentración de sal más alta; contrario a la aplicación de NaCl 75 mM, misma que provocó la disminución significativa de la actividad de APX respecto al control ( $p=0.00068$ ) y demás tratamientos.

Las plantas sintetizan y acumulan osmolitos, entre ellos la prolina, como uno de sus mecanismos de defensa contra el estrés osmótico y el daño oxidativo provocado por condiciones de estrés abióticos como la salinidad (Rhaman et al., 2024); debido

a que al ser un chaperón molecular, éste actúa como antioxidante y eliminador de ROS (Ghosh et al., 2021; Rhaman et al., 2024). La acumulación de prolina se ha asociado con el incremento de la tolerancia al estrés salino en diversos cultivos, tales como el tomate (*Solanum lycopersicum* L.) y soja (*Glycine max*) (Ghosh et al., 2021). Se ha reportado que, de manera general, la concentración de prolina aumenta con niveles de salinidad de 75 a 200 mM, sin embargo, esto depende de la especie de planta; en el caso del trigo, arroz, y arabidopsis, este incremento se observa con la aplicación de NaCl de 75 a 200 mM, mientras que en maíz es con NaCl a 100 mM (Soltabayeva et al., 2021). En cultivares de chile (*Capsicum annuum*) se encontró que los tratamientos salinos (10.5 g y 14.2 g NaCl\*L<sup>-1</sup>) tuvieron un efecto significativo sobre el contenido de prolina en comparación con el control, sin embargo, no hubo diferencias estadísticas entre el efecto de estos tratamientos (Giancarla et al., 2020).

Por otro lado, las plantas activan sistemas antioxidantes enzimáticas y no enzimáticas como mecanismo de respuesta al daño oxidativo provocado por la salinidad. Se ha reportado el incremento de la actividad de enzimas antioxidantes como catalasa, superóxido dismutasa, peroxidasa, ascorbato peroxidasa, glutatión reductasa, entre otras, ante la exposición de plantas a tratamientos salinos.

Se ha reportado que la aplicación de NaCl 200 mM incrementó significativamente la actividad de enzimas antioxidantes (SOD, POD, CAT, y APX) en plantas de chile (*Capsicum annuum*) (Hahm et al., 2017; Jin et al., 2024). También, Butt et al., (2021) observaron que ante el aumento del nivel de NaCl en plantas de *C. annuum*, la actividad enzimática de SOD, CAT y POD incrementó significativamente. Lo que sustenta el efecto de la aplicación de NaCl sobre la actividad de SOD y APX. En el caso de CAT, los resultados obtenidos fueron contrastantes con la literatura.

Aunque PAL no es considerada como una enzima antioxidante, está relacionada con la activación del sistema antioxidante enzimático de las plantas, al ser una enzima clave en la vía metabólica de los fenilpropanoides, responsables de la síntesis de fenoles y flavonoides (Oosalo et al., 2024). Se ha reportado que, bajo condiciones de salinidad, PAL ayuda a mantener el balance entre las ROS que se

generan producto del estrés oxidativo y la detoxificación de estas especies en las plantas (Astaneh et al., 2018). En cultivares de pimiento picante, la exposición a condiciones salinas (NaCl a 20 y 40 mM) incrementó la actividad de PAL (Zamljen et al., 2023).

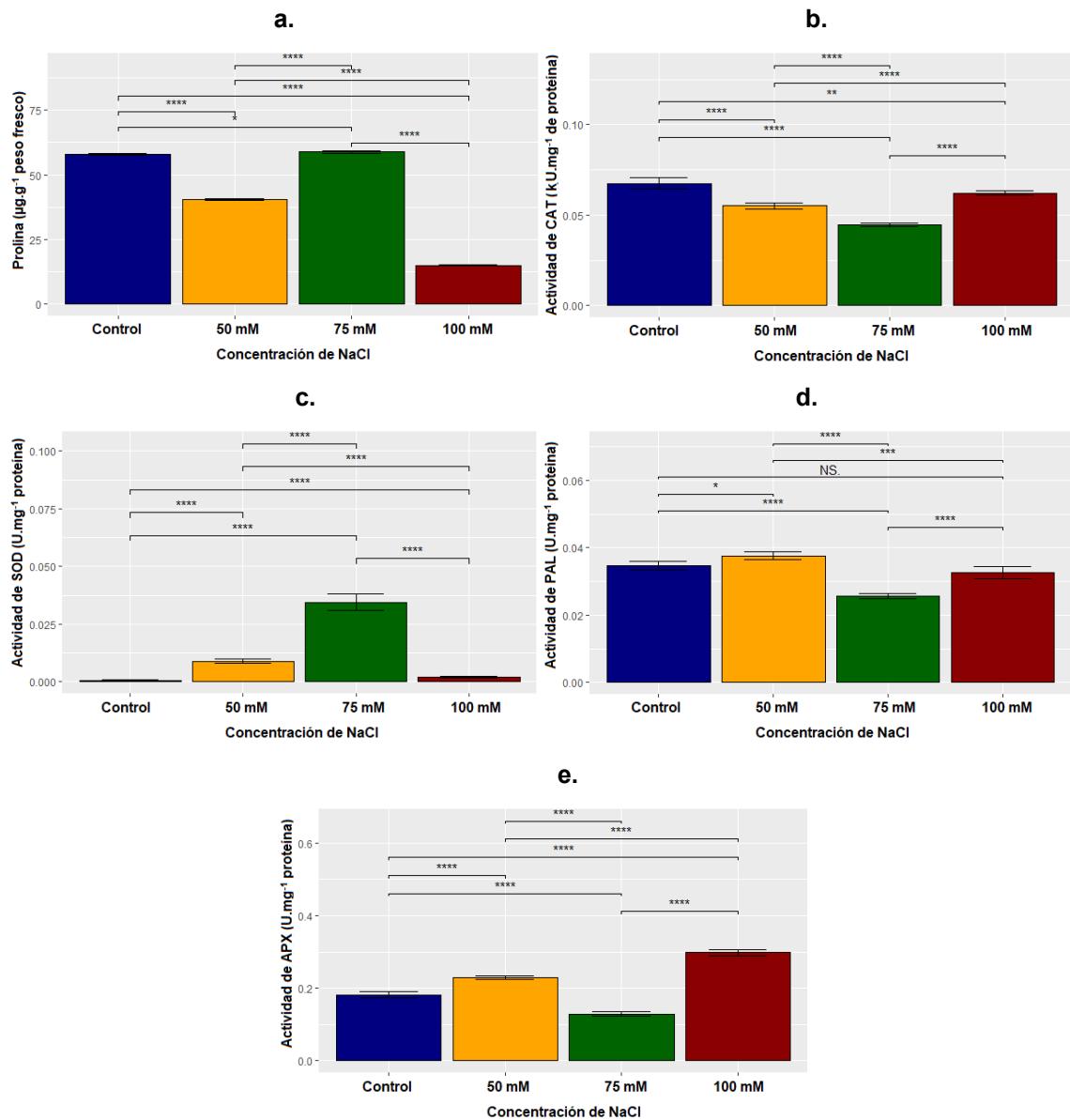


Figura 46. Efecto de los tratamientos con NaCl sobre variables bioquímicas en hojas de chile jalapeño. a. Contenido de prolina; b. Actividad de CAT; c. Actividad de SOD; d. Actividad de PAL; e. Actividad de APX. Los resultados se expresan como la media  $\pm$  el error estándar. Nivel de significancia ( $\alpha$ ) \*\*\*\*=0.01, \*\*\*=0.05, \*\*=0.10, \*=0.2, NS=No significativo.

- Efecto de condiciones de salinidad en frutos de chile jalapeño

Se determinó el efecto de la aplicación de NaCl 50, 75 y 100 mM sobre metabolitos secundarios como capsaicinoides, polifenoles y flavonoides en frutos

de chile jalapeño (Figura 47). La aplicación de NaCl 100 mM promovió el aumento significativo del contenido de capsaicinoides totales con respecto al control ( $p=0.00015$ ), mientras que la aplicación de NaCl 75 mM indujo a la menor acumulación de este metabolito ( $p=0.066$ ,  $\alpha=0.1$ ); el efecto de NaCl 50 mM fue estadísticamente igual al control ( $p=0.4$ ) (Figura 47, a).

La aplicación de NaCl 50 y 100 mM indujo al incremento en la acumulación de polifenoles totales ( $p\leq0.0002$ ), siendo mayor para la concentración de sal más alta. En contraste, la aplicación de NaCl 75 mM no favoreció la producción de polifenoles totales, ésta resultó en valores más bajos que el control ( $p=0.0011$ ) (Figura 47, b). Por otro lado, se observó la disminución significativa del contenido de flavonoides totales en frutos de plantas tratadas con NaCl ( $p\leq9.6*10^{-10}$ ), encontrándose que a mayor concentración de sal hay una menor acumulación de este metabolito (Figura 47, c).

De acuerdo con la literatura, los resultados del efecto del estrés salino sobre metabolitos secundarios como capsaicinoides, fenoles y flavonoides totales en frutos dependen de la severidad de los tratamiento, así como de los cultivares sometidos a condiciones de salinidad. En el caso de los capsaicinoides, estos son uno de los principales metabolitos secundarios en los frutos de chile, que varían de acuerdo con el genotipo, parte del fruto y el factor de estrés al que estén sometidas las plantas (Zamljen et al., 2023).

Arrowsmith et al. (2012) no encontraron diferencias significativas en la concentración de capsaicina en frutos de plantas de chile jalapeño tratadas con NaCl al 0.5, 1.0 y 1.5%, y con el grupo control ( $p>0.75$ ); sin embargo, el contenido de capsaicina fue mayor para las dos concentraciones de sal más altas.

Genzel et al. (2021) tampoco observaron diferencias significativas en la concentración de polifenoles totales al aplicar NaCl 200 mM en comparación con el control en frutos de cultivares de chile ni pimiento morrón. Además, aunque el contenido de polifenoles incrementó con la aplicación de sal, el efecto de este tratamiento resultó ser estadísticamente igual al de la aplicación de NaCl 400 mM ( $p\leq0.05$ ). Además, estos investigadores no encontraron efecto significativo entre

las dos concentraciones de NaCl evaluadas y el control sobre el contenido de flavonoides para ninguno de los cultivares de *Capsicum* ( $p \leq 0.05$ ).

Por su parte, Zamljen et al., (2022) reportaron variación en el contenido de capsaicinoides y polifenoles totales para diferentes cultivares de pimiento (*C. annuum* L.) al ser tratados con NaCl 20 y 40 mM, encontrando que, para la mayoría de los cultivares, la concentración de sal más alta provocó un mayor incremento de estos metabolitos.

Lo anterior podría justificar que se haya obtenido un contenido de capsaicinoides y polifenoles totales más alto para la mayor severidad de estrés salino evaluado (100 mM). En cuanto al contenido de flavonoides totales, los resultados obtenidos y los reportados en diferentes estudios son contrastantes.

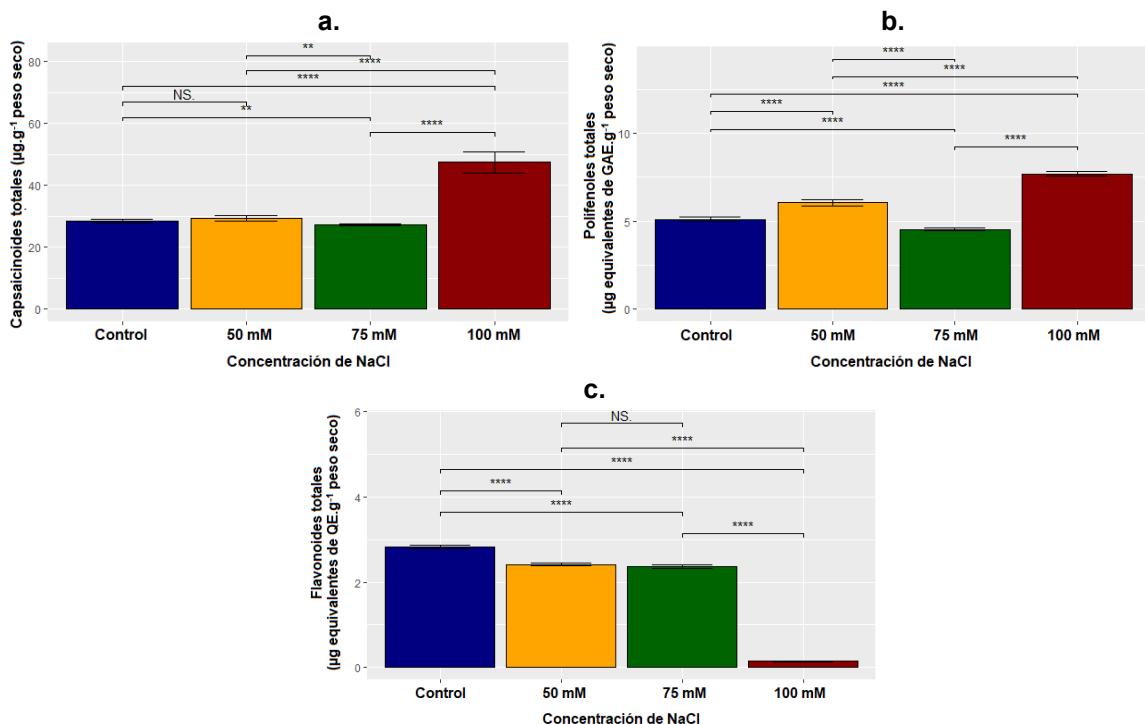
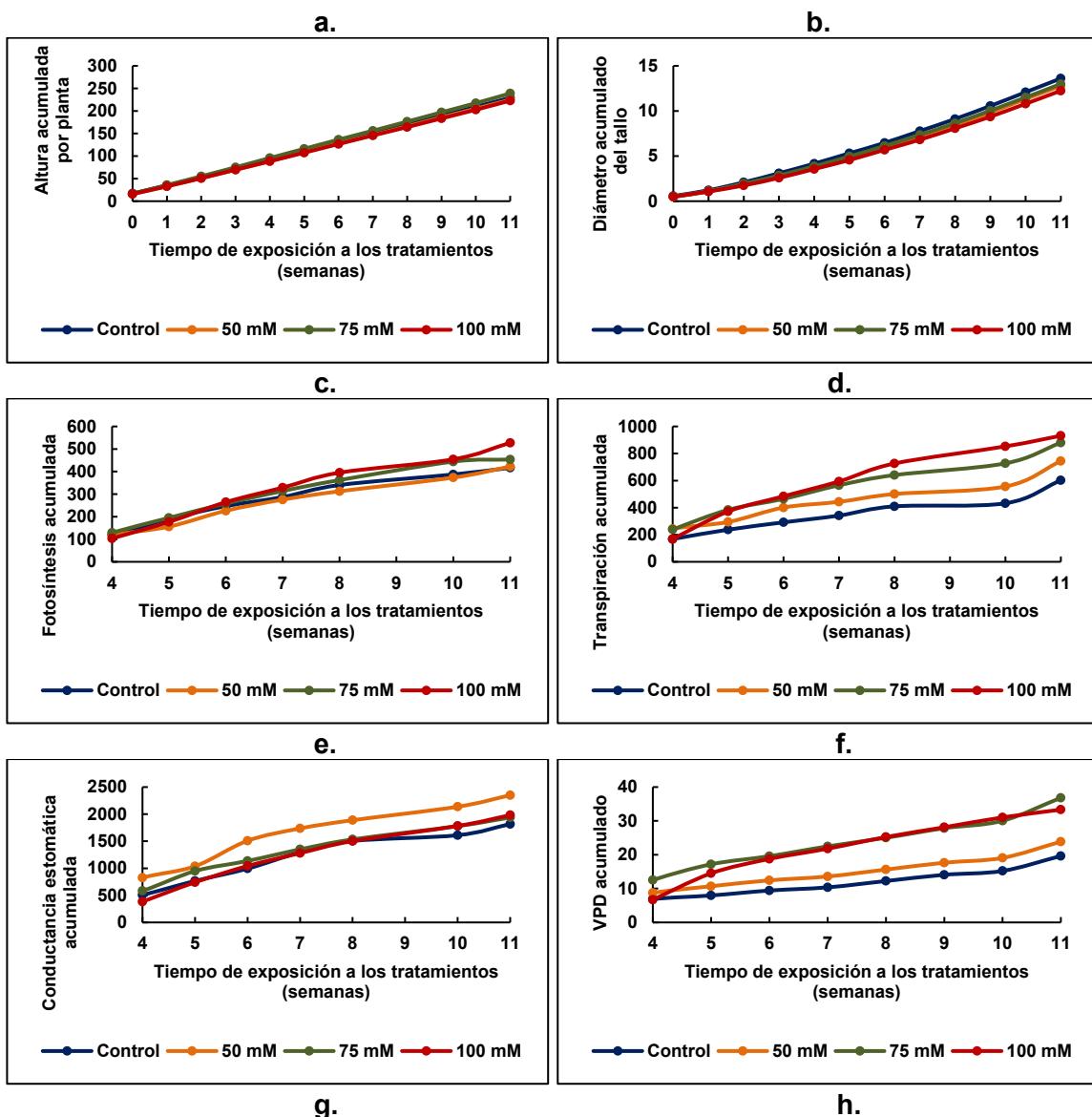


Figura 47. Efecto de la aplicación de NaCl sobre metabolitos secundarios en frutos de chile jalapeño. a. Capsaicinoides totales; b. Polifenoles totales; c. Flavonoides totales. Los resultados se expresan como la media  $\pm$  el error estándar. Nivel de significancia (a) \*\*\*\*=0.01, \*\*\*=0.05, \*\*=0.10, \*=0.2, NS=No significativo. GAE: Equivalentes de ácido gálico. QE: Equivalentes de querctetina.

### 9.2.3. Obtención de modelos matemáticos que estimen y predigan el estrés por salinidad en plantas de chile jalapeño

Se obtuvieron los estimadores de estrés por salinidad ( $\beta$ ) mediante el método de estimación por intervalos a partir de las pendientes de las regresiones lineales obtenidas para los valores acumulados para las variables altura de la planta, diámetro del tallo, fotosíntesis, transpiración, conductancia estomática, déficit de presión de vapor, NDVI, y prolina. El comportamiento de los datos acumulados para estas variables se presenta en la Figura 48.



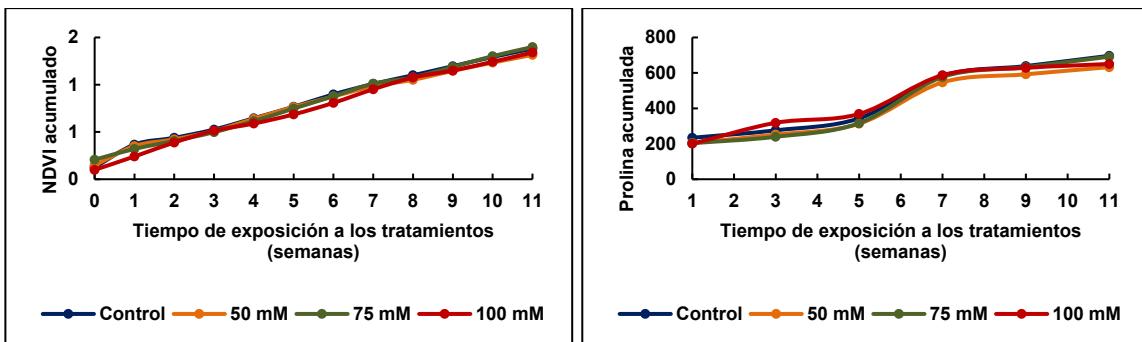
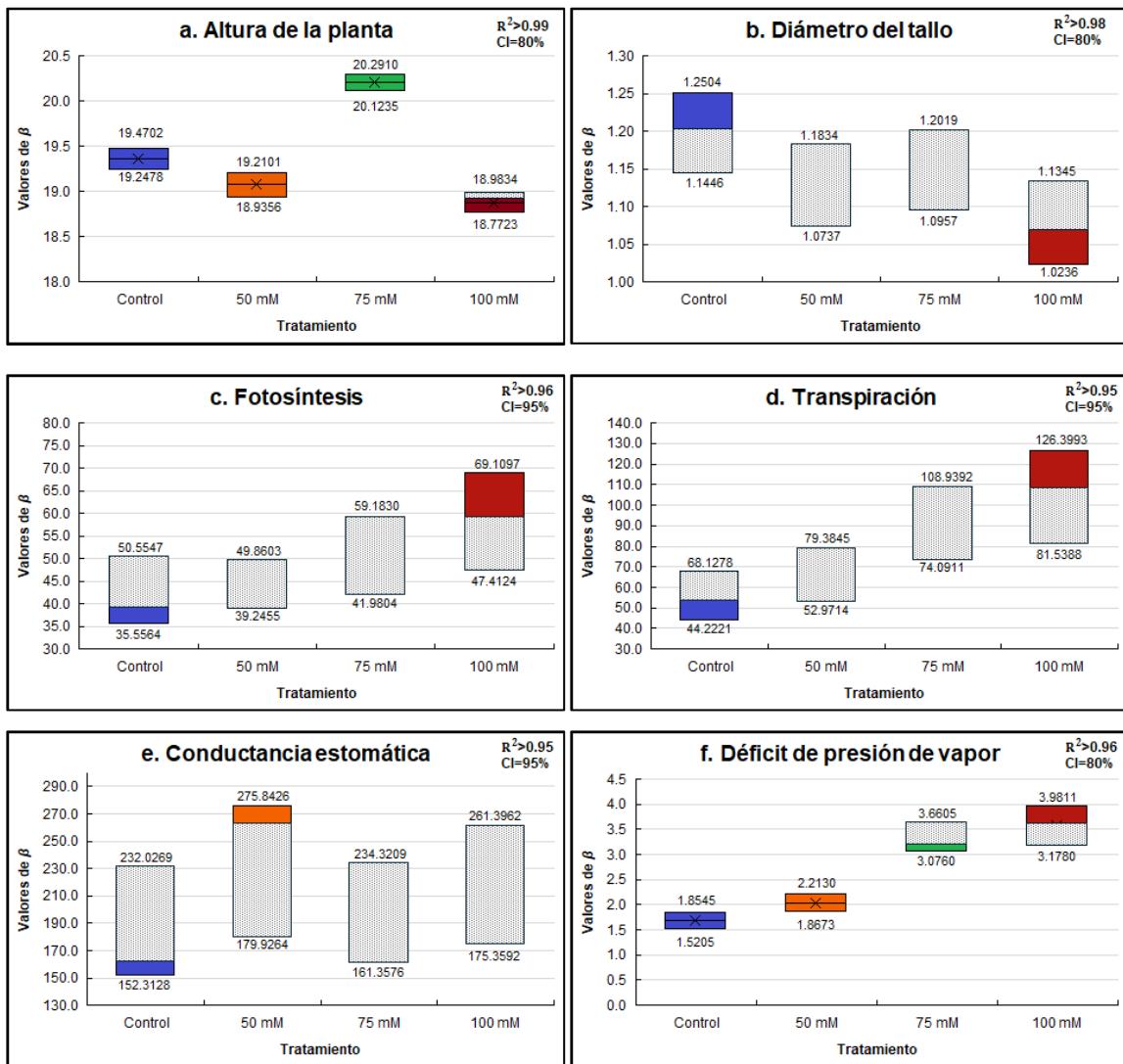


Figura 48. Comportamiento de las respuestas morfo-fisiológicas y bioquímica acumuladas de plantas de *C. annuum* bajo condiciones de salinidad. a. Altura acumulada por planta; b. Diámetro de tallo acumulado; c. Fotosíntesis acumulada; d. Transpiración acumulada; e. Conductancia estomática acumulada; f. Déficit de presión de vapor (VPD) acumulado; g. NDVI: índice de vegetación de diferencia normalizada acumulado; h. prolina acumulada.

En la Figura 49 se presentan los valores de la pendiente de los modelos lineales ( $\beta$ ) obtenidos para cada tratamiento por variable analizada. Las zonas con coloración representan los intervalos de  $\beta$  en el que es posible distinguir el nivel de estrés salino en el que se encuentran las plantas de chile jalapeño. Las zonas punteadas y grises representan áreas de traslape entre los valores de  $\beta$  obtenidos para los tratamientos, por lo que no sería posible su distinción.

Se observa que el monitoreo y obtención de valores de  $\beta$  para las variables diámetro del tallo, fotosíntesis y transpiración no son buenos indicadores de estrés salino, ya que las zonas de traslape son muy grandes y no es posible distinguir entre plantas con niveles de salinidad de 50 y 75 mM. Se observó algo similar para la conductancia estomática y la prolina, donde los rangos de  $\beta$  se traslanan considerablemente, por lo que, no es posible distinguir entre alguna de las condiciones de salinidad evaluadas, sugiriendo que estas variables no son un buen indicador de salinidad.

NDVI tampoco sería un indicador de salinidad confiable, ya que solamente permite la distinción de un nivel de NaCl (50 mM) bajo el rango obtenido. Al contrario que para las variables anteriormente mencionadas, la altura de las plantas y el déficit de presión de vapor podrían considerarse como indicadores de salinidad, al permitir la distinción de los niveles de NaCl evaluados, salvo para valores de  $\beta$  que representen traslape.



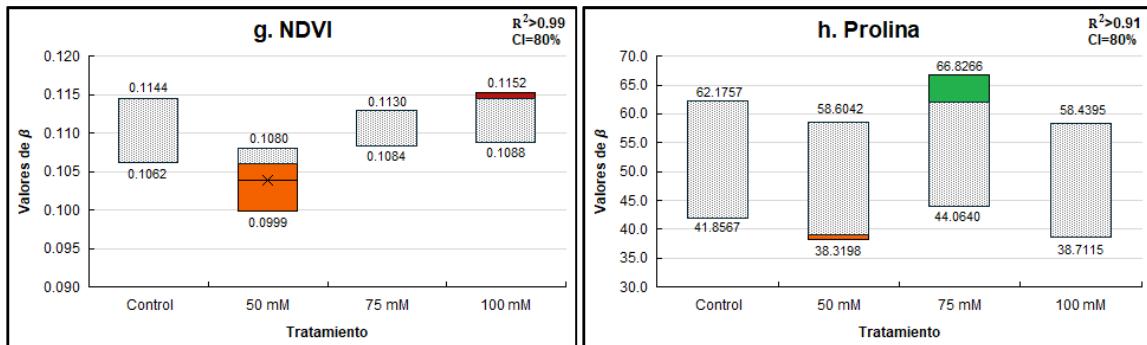


Figura 49. Rangos de intervalos de la pendiente ( $\beta$ ) para la clasificación del estado de estrés por salinidad de plantas de *Capsicum annuum* a partir de modelos de regresión lineal con variables acumuladas, para: a. Altura acumulada por planta; b. Diámetro de tallo acumulado; c. Fotosíntesis acumulada; d. Transpiración acumulada; e. Conductancia estomática acumulada; f. Déficit de presión de vapor (VPD) acumulado; g. NDVI: índice de vegetación de diferencia normalizada acumulado; h. Prolina acumulada.  $R^2$ : Coeficiente de determinación; CI: Intervalo de confianza.

En el Cuadro 21 se muestran los niveles de salinidad que pueden distinguirse a través de los valores de  $\beta$  para las variables evaluadas, los cuales se representan como PD; así como aquellos donde no es posible realizar distinción de nivel de salinidad (NP). Los valores numéricos representan los rangos de  $\beta$  para las variables en los que se podría distinguir cada condición salina.

Es posible distinguir que las plantas de chile jalapeño no están expuestas a una condición de salinidad con las variables altura de la planta y VPD; NDVI y prolina no permiten identificar esta condición de no salinidad; las demás variables solamente serían de utilidad como indicadoras de nula salinidad bajo los rangos de  $\beta$  mencionados en la tabla. Un nivel de salinidad 50 mM de NaCl podría ser identificado a través de los valores de  $\beta$  para el déficit de presión de vapor, así como se podría identificar un nivel de salinidad de 75 mM de NaCl mediante el monitoreo de la altura de la planta, o con VPD y prolina únicamente en los rangos de  $\beta$  obtenidos para estas variables. La condición de salinidad de 100 mM solamente es posible de identificarse para los rangos de  $\beta$  presentados en la tabla para cada tratamiento.

Cuadro 21. Resumen sobre la detección del estrés por salinidad de acuerdo con los intervalos de  $\beta$  obtenidos para cada variable.

Tratamiento	Altura de la planta	Diámetro del tallo	Fotosíntesis	Transpiración	Conductancia estomática	VPD	NDVI	Prolina
Control	PD	(1.2019-1.2504]	[35.5564-39.2455)	[44.2221-52.9714)	[152.3128-161.3576)	PD	NP	NP
NaCl 50 mM	(18.9834-19.2101]	NP	NP	NP	(261.3962-275.8426]	PD	[0.0999-0.1062)	[38.3198-38.7115)
NaCl 75 mM	PD	NP	NP	NP	NP	[3.0760-3.1780)	NP	(62.1757-66.8266]
NaCl 100 mM	[18.7723-18.9356)	[1.0236-1.0737)	(59.1830-69.1097]	(108.9392-126.3993]	NP	(3.6605-3.9811]	(0.1144-0.1152]	NP

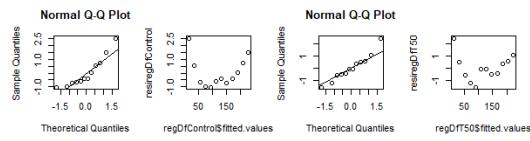
PD: Condición de salinidad posible de distinguir. NP: Condición de salinidad no posible de distinguir.

Se aplicó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk a los residuos de los modelos de regresión lineal obtenidos para cada variable con la finalidad de analizar la validez de los modelos, encontrando que, solamente los datos para la altura de la planta con NaCl a 75 y 100 mM ( $p<0.05$ ). Lo cual se apoya también en la distribución de los residuos en las gráficas Q-Q (Figura 50).

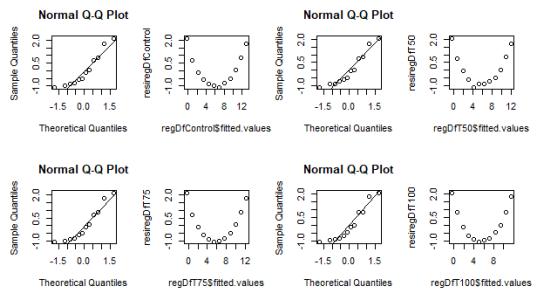
Cuadro 22. Valores de  $p$  para la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk con  $\alpha=0.05$ , utilizando residuos del modelo de regresión lineal para cada una de las variables involucradas.

Tratamiento con NaCl	Altura de la planta	Diámetro del tallo	Fotosíntesis	Transpiración	Conductancia estomática	Valor de $p$		
						VPD	NDVI	Prolina
Control	0.052	0.089	0.271	0.180	0.1233	0.264	0.334	0.670
50 mM	0.639	0.104	0.153	0.587	0.1477	0.427	0.363	0.654
75 mM	0.006	0.076	0.151	0.090	0.052	0.553	0.914	0.579
100 mM	0.004	0.057	0.276	0.541	0.382	0.103	0.674	0.947

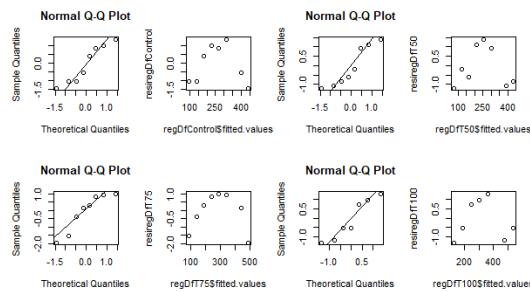
## a. Altura de la planta



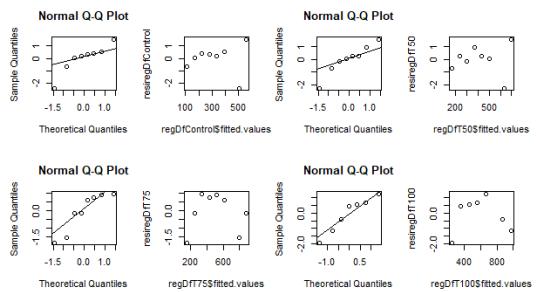
## b. Diámetro del tallo



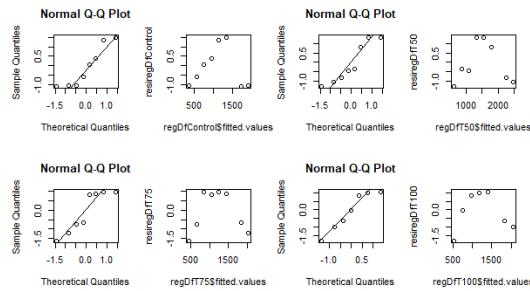
## c. Fotosíntesis



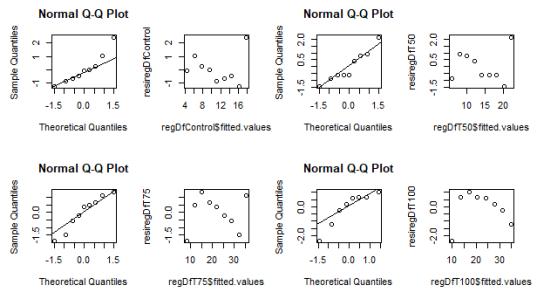
## d. Transpiración



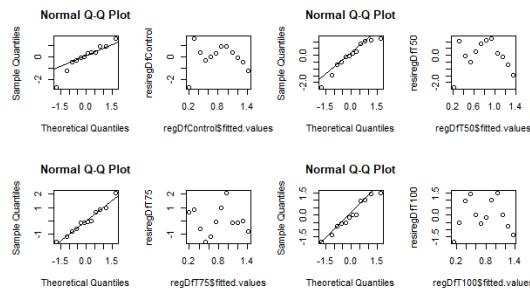
## e. Conductancia estomática



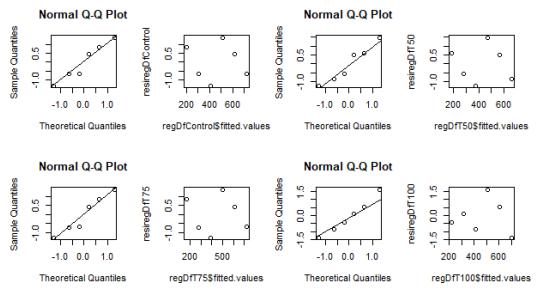
## f. Déficit de presión de vapor



## g. NDVI



## h. Prolina



quizas convenga separar esta figura en varias porque no se ve claramente.

Figura 50. Gráfica Q-Q normal para residuos de regresiones lineales utilizando la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk. a. Altura de la planta; b. Diámetro del tallo; c. Fotosíntesis; d. Transpiración; e. Conductancia estomática; f. Déficit de presión de vapor (VPD); g. Índice de vegetación de diferencia normalizada (NDVI); h. Prolina.

### 9.3. Estimación de sequía y salinidad a partir de $\beta$

El Cuadro 23 resume los intervalos de  $\beta$  obtenidos para las respuestas morfológicas (altura de la planta y diámetro del tallo), fisiológicas (fotosíntesis, transpiración, conductancia estomática, y NDVI), y bioquímica (prolina) al estrés por sequía y al estrés salino en plantas de chile jalapeño a partir de los modelos de regresión lineal por el método de mínimos cuadrados y el método de estimación por intervalos.

Los intervalos (mínimo y máximo) con coloración verde representan que la variable indicada permite la distinción del nivel de estrés por sequía (40, 60, 80, y/o 100% CC) o salinidad (NaCl 0, 50, 75, y/o 100 mM). Los intervalos con coloración roja representan que la variable indicada no permite la distinción del nivel de estrés señalado. Mientras que, las celdas con coloración naranja representan que bajo un cierto rango de ese intervalo es posible distinguir el nivel de estrés.

De acuerdo con los resultados, la prolina no sería un buen indicador del estrés por sequía ni por salinidad, dado que solamente permite la distinción de sequía a 60 y 100% CC, y de salinidad a 50 y 75 mM en algunos rangos dentro de cada intervalo de  $\beta$ . El diámetro del tallo tampoco permite la distinción completa entre ninguno de los niveles de sequía ni de salinidad, solamente en algunos rangos de cada intervalo de  $\beta$  podría distinguirse los 4 niveles de estrés por sequía evaluados y entre una condición alta de salinidad (NaCl 100 mM) y una condición sin salinidad (NaCl 0 mM), por lo que no se sugiere como un indicador de estos tipos de estrés abiótico.

En el caso de la transpiración y la conductancia estomática se sugiere su uso como indicador de sequía; sin embargo solamente permitiría la distinción de los niveles de 40 y 60% CC, además para la distinción de 80 y 100% CC bajo un rango específico; al igual que para la distinción de una condición sin salinidad (NaCl 0 mM) y una condición alta de sal (NaCl 100 mM) con la transpiración y de 0 y 50 mM con la conductancia estomática. El NDVI también podría usarse como un indicador de sequía, solamente para la distinción entre condiciones de sequía ligera y sin sequía (80 y

100 % CC); además para la distinción de sequía a 40 y 60% CC, y de salinidad a 50 y 100 mM únicamente para un corto rango.

Por su parte, la altura de la planta podría ser un indicador para distinguir principalmente condiciones de salinidad (NaCl 70 mM) y una condición estrés salino (NaCl 0 mM), con el monitoreo de esta variable, 50 y 100 mM solamente podrían ser distinguidos para un rango de valores de  $\beta$ , al igual que los niveles de sequía de 40, 80y 100% CC. Finalmente, la fotosíntesis sería un buen indicador de sequía, al permitir la distinción de todos los niveles evaluados; en el caso de salinidad, solamente podrían distinguirse bajo algunos rangos los niveles de NaCl 0 y 100 mM.

Cuadro 23. Rangos de  $\beta$  obtenidos para variables morfológicas, fisiológicas y bioquímicas por tratamiento de estrés por sequía y salinidad.

Tipo de estrés	Factor de análisis	Tratamiento	Altura de la planta		Diámetro del tallo		Fotosíntesis		Transpiración		Conductancia estomática		NDVI		Prolina		
			Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	
Sequía	Capacidad de campo (%)	40	4.755	5.105	0.142	0.161	12.340	13.896	23.330	26.743	58.132	61.757	0.039	0.040	0.057	0.070	
		60	4.797	5.152	0.150	0.169	13.980	15.267	18.683	22.236	38.360	43.978	0.040	0.041	0.065	0.078	
		80	5.113	5.484	0.172	0.196	15.470	16.597	28.095	31.819	72.610	77.569	0.044	0.045	0.053	0.064	
		100	4.922	5.285	0.171	0.193	17.099	18.430	27.221	30.311	70.742	75.064	0.045	0.045	0.050	0.066	
<b>R<sup>2</sup> ajustado</b>			<b>&gt;0.99</b>		<b>&gt;0.97</b>		<b>&gt;0.99</b>		<b>&gt;0.98</b>		<b>&gt;0.97</b>		<b>&gt;0.99</b>		<b>&gt;0.98</b>		
<b>Intervalo de confianza</b>			<b>80%</b>		<b>80%</b>		<b>95%</b>		<b>95%</b>		<b>95%</b>		<b>80%</b>		<b>80%</b>		
Salinidad	NaCl (mM)	0	19.248	19.470	1.145	1.250	35.556	50.555	44.222	68.128	152.313	232.027	0.106	0.114	41.857	62.176	
		50	18.936	19.210	1.074	1.183	39.246	49.860	52.971	79.384	179.926	275.843	0.100	0.108	38.320	58.604	
		75	20.123	20.291	1.096	1.202	41.980	59.183	74.091	108.939	161.358	234.321	0.108	0.113	44.064	66.827	
		100	18.772	18.983	1.024	1.134	47.412	69.110	81.539	126.399	175.359	261.396	0.109	0.115	38.712	58.440	
<b>R<sup>2</sup> ajustado</b>			<b>&gt;0.99</b>		<b>&gt;0.98</b>		<b>&gt;0.97</b>		<b>&gt;0.95</b>		<b>&gt;0.95</b>		<b>&gt;0.99</b>		<b>&gt;0.91</b>		
<b>Intervalo de confianza</b>			<b>80%</b>		<b>80%</b>		<b>95%</b>		<b>95%</b>		<b>95%</b>		<b>80%</b>		<b>80%</b>		

\*NDVI: Índice de vegetación de diferencia normalizada.

## X. Conclusiones

*Capsicum annuum* L. variedad M. mostró diferentes respuestas morfológicas, fisiológicas y bioquímicas frente a los niveles de sequía y salinidad evaluadas de manera independiente. Las plantas de chile jalapeño mostraron mayor sensibilidad al estrés por sequía que al estrés salino.

El incremento en la severidad de la sequía afectó negativamente el crecimiento y desarrollo de las plantas. Los procesos fisiológicos como la fotosíntesis, transpiración, y conductancia estomática también se vieron afectados por la sequía, siendo menores para el nivel de sequía severa (40% CC). Además, la sequía promovió la acumulación de prolina en las hojas y el aumento en la actividad enzimática de CAT y SOD, y no mostró efecto significativo sobre la actividad de POD, APX, ni PAL.

En los frutos de chile, el aumento en la severidad de la sequía afectó significativamente el número de frutos por planta, la masa de frutos, así como su diámetro ecuatorial y polar. Además, el riego a 40% CC promovió la acumulación de capsaicinoides, mientras que el riego a 60% CC favoreció la mayor acumulación de flavonoides totales; contrario a la producción de polifenoles totales, la cual fue mayor para 80% CC. No se observó efecto de ningún tratamiento sobre la expresión relativa del gen de chalcona isomerasa.

Las respuestas de *C. annuum* L. frente a la sequía fueron afectadas en menor medida por 80% CC, incluida la producción de fruto, teniendo un efecto significativamente igual al control, lo que sugiere un ahorro del 20% del agua empleada para el riego de *Capsicum annuum* L. variedad M.

La exposición de las plantas a condiciones de salinidad no afectó significativamente las respuestas morfológicas en las plantas de chile jalapeño. Los procesos fisiológicos como la fotosíntesis y transpiración fueron mantenidos con la aplicación de NaCl a 50 y 75 mM, mientras que para 100 mM la fotosíntesis

incrementó y la transpiración disminuyó. La conductancia estomática se mantuvo igual para todos los niveles de salinidad.

La respuesta fisiológica más afectada con la salinidad fue el déficit de presión de vapor, la cual incrementó para NaCl 50 y 75 mM y disminuyó severamente para 100 mM. Ningún nivel de salinidad promovió la acumulación final de prolina en las hojas, sino que su concentración disminuyó. La actividad de CAT fue menor con los tratamientos de salinidad mientras que SOD fue mayor, principalmente para 75 mM de NaCl. La actividad de PAL fue mayor para NaCl a 50 mM, mientras que la aplicación de NaCl a 100 mM resultó en una mayor actividad de APX. En los frutos, el nivel de salinidad más severo promovió la mayor acumulación de capsaicnoides y polifenoles totales, pero no de flavonoides.

El uso de modelos de regresión lineal de mínimos cuadrados y el método de estimación por intervalos permitieron la obtención de los rangos de las pendientes ( $\beta$ ) para cada uno de los niveles de sequía y salinidad por cada respuesta morfológica, fisiológica y bioquímica evaluada. Los resultados sugieren a la fotosíntesis como un indicador para todos los niveles de sequía; mientras que la altura de la planta podría ser usado como indicador de los niveles de salinidad, principalmente a 75 mM y una condición sin salinidad, con un intervalo de confianza al 95% y 80%, respectivamente, y un  $R^2$  ajustado mayor a 0.99.

Aunque el modelo de estudio fue el chile jalapeño, el método propuesto podría explorar la aplicación del método propuesto para detectar y clasificar el estrés por sequía en otras especies vegetales. Además, se podría evaluar la interacción de las respuestas monitoreadas para establecer otros modelos matemáticos.

## XI. Bibliografía

Abazi, U., Lorite, I. J., Cárcelos, B., Raya, A. M., Durán, V. H., Francia, J. R., & Gómez, J. A. (2013). WABOL : A conceptual water balance model for analyzing rainfall water use in olive orchards under different soil and cover crop management strategies. *Computers and Electronics in Agriculture*, 91, 35–48. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2012.11.010>

Abdelraheem, A., Esmaeili, N., O'Connell, M., & Zhang, J. (2019). Progress and perspective on drought and salt stress tolerance in cotton. *Industrial Crops and Products*, 130(December 2018), 118–129. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.12.070>

Acosta-Navarrete, M. S., Padilla-Medina, J. A., Botello-Alvarez, J. E., Prado-Olivarez, J., Perez-Rios M, M., Díaz-Carmona, J. J., Contreras-Medina, L. M., Duarte-Galvan, C., Millan-Almaraz, J. R., & Fernandez-Jaramillo, A. A. (2014). Instrumentation and Control to Improve the Crop Yield. In *Biosystems Engineering: Biofactories for Food Production in the Century XXI* (pp. 363–400). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-03880-3\\_13](https://doi.org/10.1007/978-3-319-03880-3_13)

Afiyanti, M., & Chen, H. J. (2014). Catalase activity is modulated by calcium and calmodulin in detached mature leaves of sweet potato. *Journal of Plant Physiology*, 171(2), 35–47. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2013.10.003>

Aguilar-Rincón, V. H. A., Corona, T., López, P., Latournerie, L., Ramírez, M., Villalón, H., & Aguilar, J. (2010). *Los chiles de México y su distribución* (U. SINAREFI, Colegio de Postgraduados, INIFAP, IT-Conkal, UANL (Ed.)).

Ahmad, P., Jaleel, C. A., Salem, M. A., Nabi, G., & Sharma, S. (2010). Roles of enzymatic and nonenzymatic antioxidants in plants during abiotic stress. *Critical Reviews in Biotechnology*, 30(3), 161–175. <https://doi.org/10.3109/07388550903524243>

Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S., & Karanov, E. (2001). The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant, Cell and Environment*, 24(12), 1337–1344. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2001.00778.x>

Altangerel, N., Ariunbold, G. O., Gorman, C., Alkahtani, M. H., Borrego, E. J., Bohlmeier, D., Hemmer, P., Kolomiets, M. V., Yuan, J. S., & Scully, M. O. (2017). In vivo diagnostics of early abiotic plant stress response via Raman spectroscopy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114(13), 3393–3396. <https://doi.org/10.1073/pnas.1701328114>

Álvarez, F., & Pino, M. T. (2015). Aspectos generales del manejo agronómico del pimiento en Chile. In *Pimientos para la industria de alimentos e ingredientes* (p. 41). Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA).

Alvino, A., Lorenzi, F. De, & National, I. (1994). Photosynthesis Response of Sunlit

and Shade Pepper ( *Capsicum annuum* ) Leaves at Different Positions in the Canopy Under Two Water Regimes Photosynthesis Response of Sunlit and Shade Pepper ( *Capsicum annuum* ) Leaves at Different Positions in the Canopy u. *Plant Physiology*, 21, 377–391. <https://doi.org/10.1071/PP9940377>

Anderson, J. V., & Morris, C. F. (2001). An improved whole-seed assay for screening wheat germplasm for polyphenol oxidase activity. *Crop Science*, 41(6), 1697–1705. <https://doi.org/10.2135/cropsci2001.1697>

Anjum, S. A., Ashraf, U., Tanveer, M., Khan, I., Hussain, S., Shahzad, B., Zohaib, A., Abbas, F., Saleem, M. F., Ali, I., & Wang, L. C. (2017). Drought induced changes in growth, osmolyte accumulation and antioxidant metabolism of three maize hybrids. *Frontiers in Plant Science*, 8(FEBRUARY), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00069>

Artiola, J. F., Walworth, J. L., Musil, S. A., & Crimmins, M. A. (2019). Soil and Land Pollution. In *Environmental and Pollution Science* (3rd ed.). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814719-1.00014-8>

Asaari, M. S. M., Mertens, S., Dhondt, S., Inzé, D., Wuyts, N., & Scheunders, P. (2019). Analysis of hyperspectral images for detection of drought stress and recovery in maize plants in a high-throughput phenotyping platform. *Computers and Electronics in Agriculture*, 162(November 2018), 749–758. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2019.05.018>

Aza-González, C., Núñez-Palenius, H. G., & Ochoa-Alejo, N. (2011). Molecular biology of capsaicinoid biosynthesis in chili pepper (*Capsicum* spp.). *Plant Cell Reports*, 30(5), 695–706. <https://doi.org/10.1007/s00299-010-0968-8>

Azuma, R., Ito, N., Nakayama, N., Suwa, R., Nguyen, N. T., Larrinaga-Mayoral, J. Á., Esaka, M., Fujiyama, H., & Saneoka, H. (2010). Fruits are more sensitive to salinity than leaves and stems in pepper plants (*Capsicum annuum* L.). *Scientia Horticulturae*, 125(3), 171–178. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2010.04.006>

Babazadeh, H., Tabrizi, M. S., & Homaee, M. (2017). Assessing and Modifying Macroscopic Root Water Extraction Basil ( *Ocimum basilicum* ) Models under Simultaneous Water and Salinity Stresses . *Soil Science Society of America Journal*, 81(1), 10–19. <https://doi.org/10.2136/sssaj2016.07.0217>

Baenas, N., Belović, M., Ilic, N., Moreno, D. A., & García-Viguera, C. (2019). Industrial use of pepper (*Capsicum annuum* L.) derived products: Technological benefits and biological advantages. *Food Chemistry*, 274, 872–885. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.047>

Barbero, G. F., Ruiz, A. G., Liazid, A., Palma, M., Vera, J. C., & Barroso, C. G. (2014). Evolution of total and individual capsaicinoids in peppers during ripening of the Cayenne pepper plant (*Capsicum annuum* L.). *Food Chemistry*, 153, 200–206. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.12.068>

Basu, S., Ramegowda, V., Kumar, A., & Pereira, A. (2016). Plant adaptation to drought stress [version 1; referees: 3 approved]. *F1000Research*, 5(0), 1–10. <https://doi.org/10.12688/F1000RESEARCH.7678.1>

Behmann, J., Steinrücken, J., & Plümer, L. (2014). Detection of early plant stress responses in hyperspectral images. *ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing*, 93, 98–111. <https://doi.org/10.1016/j.isprsjprs.2014.03.016>

Behrangi, A., Fetzer, E. J., Granger, S. L., Behrangi, A., Fetzer, E. J., Early, S. L. G., Behrangi, A., Fetzer, E. J., & Granger, S. L. (2016). Early detection of drought onset using near surface temperature and humidity observed from space. *International Journal of Remote Sensing*, 37(16), 3911–3923. <https://doi.org/10.1080/01431161.2016.1204478>

Boken, V. K., Cracknell, A. P., & Heathcote, R. L. (2005). *Monitoring and Predicting Agricultural Drought: A Global Study*. Oxford University Press. <https://books.google.com.mx/books?id=y6r9jUTzJiYC>

Born, N., Behringer, D., Liepelt, S., Beyer, S., Schwerdtfeger, M., Ziegenhagen, B., & Koch, M. (2014). Monitoring plant drought stress response using terahertz time-domain spectroscopy. *Plant Physiology*, 164(4), 1571–1577. <https://doi.org/10.1104/pp.113.233601>

Bradford, M. (1976). *A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding*. 254, 248–254.

Bray, E. A. (1997). Plant responses to water deficit. *Trends in Plant Science*, 2(2), 48–54. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(97\)82562-9](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(97)82562-9)

Bray, E., Bailey-Serres, J., & Weretilnyk, E. (2000). *Responses to abiotic stress* (Biochemistry and Molecular Biology of Plants (Ed.). American Society of Plant Physiology.

Bunce, J. A. (2009). Use of the response of photosynthesis to oxygen to estimate mesophyll conductance to carbon dioxide in water-stressed soybean leaves. *Plant, Cell and Environment*, 32(7), 875–881. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2009.01966.x>

Butt, M., Id, A. S., Abbas, T., Hussain, R., Ijaz, M., Sher, A., Shahzad, U., Ullah, S., Brestic, M., Zivcak, M., Gasparovic, K., Aljuaid, B. S., El-shehawi, A. M., Tan, A., & Zuan, K. (2021). Morpho-physiological and biochemical attributes of Chili (*Capsicum annuum L.*) genotypes grown under varying salinity levels. *PLoS ONE*, 16(1), 1–12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0257893>

Butt, Y. N., Fatima, Q., Nasar, S., Ikram, J., & Akram, S. (2017). Drought Tolerance In Plants: A Review. *Research & Reviews: Journal of Ecology and Environmental Sciences*, 5(4), 20–28.

Bybordi, A. (2010). The influence of salt stress on seed germination, growth and yield of canola cultivars. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 38(1), 128–133. <https://doi.org/10.15835/nbha3813572>

Campbell, P. K. E., Middleton, E. M., McMurtrey, J. E., Corp, L. A., & Chappelle, E. W. (2007). Assessment of Vegetation Stress Using Reflectance or Fluorescence Measurements. *Journal of Environmental Quality*, 36(3), 832–

845. <https://doi.org/10.2134/jeq2005.0396>

Cemek, B., Ünlükara, A., Kurunç, A., & Küçüktopcu, E. (2020). Leaf area modeling of bell pepper (*Capsicum annuum* L.) grown under different stress conditions by soft computing approaches. *Computers and Electronics in Agriculture*, 174(April), 105514. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2020.105514>

Cerón-carrillo, T., Munguía-pérez, R., García, S., & Santiesteban-lópez, N. A. (2015). Actividad antimicrobiana de extractos de diferentes especies de chile (*capsicum*). *Revista Iberoamericana de Ciencias*, July 2014.

Chieb, M., & Gachomo, E. W. (2023). The role of plant growth promoting rhizobacteria in plant drought stress responses. *BMC Plant Biology*, 23(1), 407. <https://doi.org/10.1186/s12870-023-04403-8>

Chopart, J. L., Mézino, M., Aure, F., Le Mézo, L., Mété, M., & Vauclin, M. (2007). OSIRI: A simple decision-making tool for monitoring irrigation of small farms in heterogeneous environments. *Agricultural Water Management*, 87(2), 128–138. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2006.06.023>

Cisneros, R. (2003). *Apuntes de la materia de riego y drenaje*.

Coleman-Derr, D., & Tringe, S. G. (2014). Building the crops of tomorrow: Advantages of symbiont-based approaches to improving abiotic stress tolerance. *Frontiers in Microbiology*, 5(JUN), 1–6. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00283>

Considine, M. J., María Sandalio, L., & Helen Foyer, C. (2015). Unravelling how plants benefit from ROS and NO reactions, while resisting oxidative stress. *Annals of Botany*, 116(4), 469–473. <https://doi.org/10.1093/aob/mcv153>

Dai, A. (2013). Increasing drought under global warming in observations and models. *Nature Climate Change*, 3(1), 52–58. <https://doi.org/10.1038/nclimate1633>

Dalal, A., Bourstein, R., Haish, N., Shenhar, I., Wallach, R., & Moshelion, M. (2019). Dynamic Physiological Phenotyping of Drought-Stressed Pepper Plants Treated With “Productivity-Enhancing” and “Survivability-Enhancing” Biostimulants. *Frontiers in Plant Science*, 10. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00905>

Dao, P. D., He, Y., & Proctor, C. (2021). Plant drought impact detection using ultra-high spatial resolution hyperspectral images and machine learning. *International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation*, 102, 102364. <https://doi.org/10.1016/j.jag.2021.102364>

Daszkowska-golec, A., & Szarejko, I. (2013). Open or close the gate – stomata action under the control of phytohormones in drought stress conditions. *Frontiers in Plant Science*, 4(May), 1–16. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00138>

De Oliveira, A. B., Mendes Alencar, N. L., & Gomes-Filho, E. (2013). Comparison Between the Water and Salt Stress Effects on Plant Growth and Development. *Responses of Organisms to Water Stress*. <https://doi.org/10.5772/54223>

Demidchik, V. (2015). Mechanisms of oxidative stress in plants: From classical chemistry to cell biology. *Environmental and Experimental Botany*, 109, 212–228. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2014.06.021>

Deng, M. H., Wen, J. F., Huo, J. L., Zhu, H. S., Dai, X. Z., Zhang, Z. Q., Zhou, H., & Zou, X. X. (2012). Relationship of metabolism of reactive oxygen species with cytoplasmic male sterility in pepper (*Capsicum annuum* L.). *Scientia Horticulturae*, 134, 232–236. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.10.027>

Díaz-Pérez, J. C. (2018). Transpiration. In *Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813278-4.00008-7>

dos Reis, S. P., Lima, A. M., & de Souza, C. R. B. (2012). Recent molecular advances on downstream plant responses to abiotic stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(7), 8628–8647. <https://doi.org/10.3390/ijms13078628>

Du, Y., Zhao, Q., Chen, L., Yao, X., Zhang, W., Zhang, B., & Xie, F. (2020). Effect of drought stress on sugar metabolism in leaves and roots of soybean seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*, 146(November 2019), 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.11.003>

Dudley, L. M., & Shani, U. (2003). Modeling Plant Response to Drought and Salt Stress: Reformulation of the Root-Sink Term. *Vadose Zone Journal*, 2(4), 751–758. <https://doi.org/10.2113/2.4.751>

Duque, A. S., de Almeida, A. M., da Silva, A. B., da Silva, J. M., Farinha, A. P., Santos, D., Fevereiro, P., & de Sousa, S. (2013). *Abiotic Stress - Plant Responses and Applications in Agriculture* (K. Vahdati (Ed.). InTech. <https://doi.org/10.5772/45842>

Expansión. (2012). *Una metodología para generar información de sequía meteorológica, agropecuaria e hidrológica*. <https://expansion.mx/nacional/2012/02/09/la-sequia-en-mexico-causa-perdidas-millonarias-en-el-campo-mexicano>

FAO. (2018, March 15). *Disasters causing billions in agricultural losses, with drought leading the way*. <http://www.fao.org/news/story/en/item/1106977/icode/>

FAOSTAT. (2019). *Crop statistics*. Organización de Las Naciones Unidas Para La Alimentación y La Agricultura. <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>

Farber, C., Mahnke, M., Sanchez, L., & Kurouski, D. (2019). Advanced spectroscopic techniques for plant disease diagnostics. A review. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 118, 43–49. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.05.022>

Farhoudi, R., & Tafti, M. M. (2015). Effect of salt stress on seedlings growth and ions homeostasis of soybean (*Glysin Max*) cultivars. *Advances in Environmental Biology*, 5(8), 2522–2526.

Farooq, M., A.Wahid, Kobayashi, N., Fujita, D., & Basra, S. M. A. (2009). Review article Plant drought stress: effects , mechanisms and management. *Agron.*

*Sustain. Dev*, 29, 185–212.

Farooq, M., Hussain, M., Wahid, A., & Siddique, K. H. M. (2012). Drought Stress in Plants: An Overview. In R. Aroca (Ed.), *Plant Responses to Drought Stress: From Morphological to Molecular Features* (pp. 1–33). Springer Berlin Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-32653-0\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-642-32653-0_1)

Fernandez-Jaramillo, A. A., Romero-Troncoso, R. D. J., Duarte-Galvan, C., Torres-Pacheco, I., Guevara-Gonzalez, R. G., Contreras-Medina, L. M., Herrera-Ruiz, G., & Millan-Almaraz, J. R. (2015). FPGA-based chlorophyll fluorescence measurement system with arbitrary light stimulation waveform using direct digital synthesis. *Measurement: Journal of the International Measurement Confederation*, 75, 12–22. <https://doi.org/10.1016/j.measurement.2015.08.005>

Fernández, G. (2022). Sigue al alza la desertificación de suelos en México. *AM de Querétaro*. <https://amqueretaro.com/mexico/2022/06/19/sigue-al-alza-la-desertificacion-de-suelos-en-mexico/>

FESCUNAM. (2018). *Por un uso más eficiente del agua en la agricultura*. UNAM Global. <http://www.unamglobal.unam.mx/?p=45549>

Ficklin, D. L., & Novick, K. A. (2017). Historic and projected changes in vapor pressure deficit suggest a continental-scale drying of the United States atmosphere. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*, 2061–2079. <https://doi.org/10.1002/2016JD025855>

Fiorani, F., & Schurr, U. (2013). Future Scenarios for Plant Phenotyping. *Annual Review of Plant Biology*, 64(1), 267–291. <https://doi.org/10.1146/annurev-aplant-050312-120137>

Foolad, M. R. (2004). Recent advances in genetics of salt tolerance in tomatoes. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 76(2), 101–119. <https://doi.org/10.1023/B:TICU.0000007308.47608.88>

Forieri, I., Hildebrandt, U., & Rostás, M. (2016). Salinity stress effects on direct and indirect defence metabolites in maize. *Environmental and Experimental Botany*, 122, 68–77. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2015.09.007>

Giménez, C., Gallardo, M., & Thompson, R. (2013). Plant–Water Relations. *Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences*, 231–238. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409548-9.05257-X>

Giuffrida, D., Dugo, P., Torre, G., Bignardi, C., Cavazza, A., Corradini, C., & Dugo, G. (2013). Characterization of 12 Capsicum varieties by evaluation of their carotenoid profile and pungency determination. *Food Chemistry*, 140(4), 794–802. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.09.060>

Goto, K., Yabuta, S., Ssenyonga, P., Tamaru, S., & Sakagami, J.-I. (2021). Response of leaf water potential, stomatal conductance and chlorophyll content under different levels of soil water, air vapor pressure deficit and solar radiation in chili pepper (*Capsicum chinense*). *Scientia Horticulturae*, 281, 109943. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.109943>

Gull, A., Ahmad Lone, A., & Ul Islam Wani, N. (2019). Biotic and Abiotic Stresses in Plants. *Abiotic and Biotic Stress in Plants*, 1–6. <https://doi.org/10.5772/intechopen.85832>

Gupta, A., Kaur, L., & Kaur, G. (2023). Drought stress detection technique for wheat crops using machine learning. *PeerJ. Computer Science*, 9, e1268. <https://doi.org/10.7717/peerj-cs.1268>

Hammerly, R. C. (2006). *Modelación Hidrológica Con Sig Contribuciones en Su Difusión Y Aplicación* (Editorial UNL (Ed.)). Universidad Nacional del Litoral Santa Fe.

Hasan, M. M., Sharmin, I. A., Hakeem, K. R., Alharby, H. F., & Hajar, A. S. (2018). The physiology and molecular biology of stress-induced senescence. In *Senescence, Signalling and Control in Plants*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813187-9.00001-9>

Hasanuzzaman, M. (2022). Salt Stress Tolerance in Rice and Wheat: Physiological and Molecular Mechanism. In *Plant Defense Mechanisms*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.101529>

Hasanuzzaman, Mirza, Nahar, K., & Fujita, M. (2013). Plant Response to Salt Stress and Role of Exogenous Protectants to Mitigate Salt-Induced Damages. In © Springer Science+ Business Media (Ed.), *Ecophysiology and Responses of Plants under Salt Stress* (pp. 25–87). <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4747-4>

Hayat, Shamsul, Hayat, Q., Alyemeni, M. N., Wani, A. S., Pichtel, J., & Ahmad, A. (2012). Role of proline under changing environments: A review. *Plant Signaling and Behavior*, 7(11), 1456–1466. <https://doi.org/10.4161/psb.21949>

Hayat, Sikandar, Ahmad, H., Ali, M., Ren, K., & Cheng, Z. (2018). Aqueous garlic extract stimulates growth and antioxidant enzymes activity of tomato (*Solanum lycopersicum*). *Scientia Horticulturae*, 240(June), 139–146. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.06.011>

Heinen, R. B., Ye, Q., & Chaumont, F. (2009). Role of aquaporins in leaf physiology. *Journal of Experimental Botany*, 60(11), 2971–2985. <https://doi.org/10.1093/jxb/erp171>

Hideg, É., Jansen, M. A. K., & Strid, Å. (2013). UV-B exposure, ROS, and stress: Inseparable companions or loosely linked associates? *Trends in Plant Science*, 18(2), 107–115. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.09.003>

Hu, Y., Kang, S., Ding, R., Du, T., Tong, L., & Li, S. (2020). The Dynamic Yield Response Factor of Alfalfa Improves the Accuracy of Dual Crop Coefficient Approach under Water and Salt Stress. *Water*, 12(5), 1224. <https://doi.org/10.3390/w12051224>

Huez-López, M. A., Ulery, A. L., Samani, Z., Picchioni, G., & Flynn, R. P. (2011). Response of chile pepper (*Capsicum annuum L.*) to salt stress and organic and inorganic nitrogen sources: I. Growth and yield. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 14(1), 137–147.

Hussain, A., Tanveer, R., Mustafa, G., Farooq, M., Amin, I., & Mansoor, S. (2020). Comparative phylogenetic analysis of aquaporins provides insight into the gene family expansion and evolution in plants and their role in drought tolerant and susceptible chickpea cultivars. *Genomics*, 112(1), 263–275. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2019.02.005>

Idrees, S., Hanif, M. A., Ayub, M. A., Hanif, A., & Ansari, T. M. (2020). Chili Pepper. In *Medicinal Plants of South Asia* (pp. 113–124). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102659-5.00009-4>

Ihuoma, S., & Madramootoo, C. (2019a). Sensitivity of spectral vegetation indices for monitoring water stress in tomato plants. *Computers and Electronics in Agriculture*, 163(May), 104860. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2019.104860>

Ihuoma, S., & Madramootoo, C. (2019b). Crop reflectance indices for mapping water stress in greenhouse grown bell pepper. *Agricultural Water Management*, 219, 49–58. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2019.04.001>

Iqbal, M. (2003). Effect of NaCl and Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> Salinity on Leaf Appearance Stage, Tiller Production and Percent Mortality of Spring Wheat. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 6, 2001–2006. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2003.2001.2006>

Isayenkov, S. V. (2012). Physiological and molecular aspects of salt stress in plants. *Cytology and Genetics*, 46(5), 302–318. <https://doi.org/10.3103/S0095452712050040>

Isayenkov, Stanislav V., & Maathuis, F. J. M. (2019). Plant salinity stress: Many unanswered questions remain. *Frontiers in Plant Science*, 10(February). <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00080>

Jaswanthi, N., Krishna, M. S. R., Sahitya, U. L., & Suneetha, P. (2019). Apoplast proteomic analysis reveals drought stress-responsive protein datasets in chilli (*Capsicum annuum* L.). *Data in Brief*, 25, 104041. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2019.104041>

Javornik, T., & Carovi, K. (2023). Monitoring Drought Stress in Common Bean Using Chlorophyll Fluorescence and Multispectral Imaging. *Plants*, 12(6), 1–13. <https://doi.org/10.3390/plants12061386>

Javot, H., Lauvergeat, V., Santoni, V., Martin-Laurent, F., Güçlü, J., Vinh, J., Heyes, J., Franck, K. I., Schäffner, A. R., Bouchez, D., & Maurel, C. (2003). Role of a Single Aquaporin Isoform in Root Water Uptake. *The Plant Cell*, 15(2), 509–522. <https://doi.org/10.1105/tpc.008888>

Jay, S., Gorretta, N., Morel, J., Maupas, F., Bendoula, R., Rabaté, G., Dutartre, D., Comar, A., & Baret, F. (2017). Estimating leaf chlorophyll content in sugar beet canopies using millimeter- to centimeter-scale reflectance imagery. *Remote Sensing of Environment*, 198, 173–186. <https://doi.org/10.1016/j.rse.2017.06.008>

Jogaiah, S., Govind, S. R., & Tran, L. S. P. (2013). Systems biology-based approaches toward understanding drought tolerance in food crops. *Critical*

Kalaji, H. M., Bosa, K., Kościelniak, J., & Hossain, Z. (2011). Chlorophyll fluorescence - A useful tool for the early detection of temperature stress in spring barley (*Hordeum vulgare* L.). *OMICS A Journal of Integrative Biology*, 15(12), 925–934. <https://doi.org/10.1089/omi.2011.0070>

Kaldenhoff, R., & Fischer, M. (2006). Functional aquaporin diversity in plants. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1758(8), 1134–1141. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2006.03.012>

Kamanga, R. M., Echigo, K., Yodoya, K., Mekawy, A. M. M., & Ueda, A. (2020). Salinity acclimation ameliorates salt stress in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) seedlings by triggering a cascade of physiological processes in the leaves. *Scientia Horticulturae*, 270(January), 109434. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109434>

Kanda, E. K., Senzane, A., & Mabhaudhi, T. (2020). Calibration and validation of the AquaCrop model for full and deficit irrigated cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). *Physics and Chemistry of the Earth*. <https://doi.org/10.1016/j.pce.2020.102941>

Kang, W. H., Sim, Y. M., Koo, N., Nam, J. Y., Lee, J., Kim, N., Jang, H., Kim, Y. M., & Yeom, S. I. (2020). Transcriptome profiling of abiotic responses to heat, cold, salt, and osmotic stress of *Capsicum annuum* L. *Scientific Data*, 7(1), 1–7. <https://doi.org/10.1038/s41597-020-0352-7>

Kanzari, S., Daghari, I., Šimůnek, J., Younes, A., Ilahy, R., Mariem, S. Ben, Rezig, M., Nouna, B. Ben, Bahrouni, H., & Abdallah, M. A. Ben. (2020). Simulation of water and salt dynamics in the soil profile in the semi-arid region of Tunisia-evaluation of the irrigation method for a tomato crop. *Water (Switzerland)*, 12(6), 1–16. <https://doi.org/10.3390/W12061594>

Kaouther, Z., Nina, H., Rezwan, A., & Cherif, H. (2017). *Evaluation of Salt Tolerance (NaCl) in Tunisian Chili Pepper (Capsicum frutescens L.) on Growth, Mineral Analysis and Solutes Synthesis*. February 2013.

Karthika, G., & Govintha, P. (2022). *Chapter 1 - Breeding climate-resilience crops for future agriculture* (A. K. Shanker, C. Shanker, A. Anand, & M. B. T.-C. C. and C. S. Maheswari (Eds.); pp. 1–32). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816091-6.00009-2>

Kaushal, M., & Wani, S. P. (2016). Rhizobacterial-plant interactions: Strategies ensuring plant growth promotion under drought and salinity stress. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 231, 68–78. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2016.06.031>

Kaya, C., Ashraf, M., Nasser, M., & Ahmad, P. (2020). Plant Physiology and Biochemistry The role of endogenous nitric oxide in salicylic acid-induced up-regulation of ascorbate-glutathione cycle involved in salinity tolerance of pepper (*Capsicum annuum* L.) plants. *Plant Physiology and Biochemistry*,

147(December 2019), 10–20. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.11.040>

Keller, M. (2020). Photosynthesis and respiration. In *The Science of Grapevines* (3rd ed., pp. 129–148). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816365-8.00004-X>

Khan, M. A., Abdul, Q., & Etrat, N. (2007). Assessment of wheat genotypes for salinity tolerance. In A. C. Science (Ed.), *8th African Crop Science Society Conference*. (pp. 75–78).

Khan, P. S. S. V., Nagamallaiah, G. V., Rao, M. D., Sergeant, K., & Hausman, J. F. (2014). Abiotic Stress Tolerance in Plants: Insights from Proteomics. In *Emerging Technologies and Management of Crop Stress Tolerance* (Second Edi, Vol. 2). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800875-1.00002-8>

Khedr, A. H. A., Abbas, M. A., Abdel Wahid, A. A., Quick, W. P., & Abogadallah, G. M. (2003). Proline induces the expression of salt-stress-responsive proteins and may improve the adaptation of *Pancratium maritimum* L. to salt-stress. *Journal of Experimental Botany*, 54(392), 2553–2562. <https://doi.org/10.1093/jxb/erg277>

Kibria, M. G., & Hoque, A. (2019). A Review on Plant Responses to Soil Salinity and Amelioration Strategies. *Open Journal of Soil Science*, 9, 219–231. <https://doi.org/10.4236/ojss.2019.911013>

Kijne, J. W. (2003). *Unlocking the water potential of agriculture*. F.A.O.

Kosová, K., Vítámvás, P., Prášil, I. T., & Renaut, J. (2011). Plant proteome changes under abiotic stress — Contribution of proteomics studies to understanding plant stress response. *Journal of Proteomics*, 74(8), 1301–1322. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2011.02.006>

Kramer, P., & Boyer, J. (1995). *Water Relations of Plants and Soils*. Academic Press.

Kubota, C. (2020). Growth, development, transpiration, and translocation as affected by abiotic environmental factors. In *Plant Factory*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-816691-8.00013-3>

Kumar, A., & Verma, J. P. (2018). Does plant—Microbe interaction confer stress tolerance in plants: A review? *Microbiological Research*, 207(October 2017), 41–52. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.11.004>

Kumar, P. (2021). Stress amelioration response of glycine betaine and Arbuscular mycorrhizal fungi in sorghum under Cr toxicity. *PLoS ONE*, 16(7), 1–22. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0253878>

Kumar, Sandeep, Abass, M., Alshaya, H., Latief, B., & Yerramilli, V. (2022). Saudi Journal of Biological Sciences Salicylic acid mitigates salt induced toxicity through the modifications of biochemical attributes and some key antioxidants in *capsicum annuum*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(3), 1337–1347. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.01.028>

Kumar, Sanjay, Sachdeva, S., & Bhat, K. V. (2018). Plant Responses to Drought Stress : Physiological , Biochemical and Molecular Plant Responses to Drought

Stress. In *Biotic and Abiotic Stress Tolerance in Plants* (pp. 1–25).

Lakshmi, S., Motokuri, K., & Suneetha, P. (2019). Integrated approaches to study the drought tolerance mechanism in hot pepper (*Capsicum annuum* L.). *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 25(3). <https://doi.org/10.1007/s12298-019-00655-7>.

Landsberg, J., & Sands, P. (2011). Physiological Processes. In *Physiological Ecology of Forest Production: Principles, Processes and Models* (1st ed., Vol. 4, Issue 11, pp. 49–79). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374460-9.00003-2>

Lascano, R. J. (1991). Review of models for predicting soil water balance. *Soil Water Balance in the Sudano-Sahelian Zone. Proc. Workshop, Niamey, 1991*, 199, 443–458.

Lawlor, D. W. (2002). Limitation to photosynthesis in water-stressed leaves: Stomata vs. Metabolism and the role of ATP. *Annals of Botany*, 89(SPEC. ISS.), 871–885. <https://doi.org/10.1093/aob/mcf110>

Lestari, P., Syukur, M., Trikoesoemaningtyas, T., & Widiyono, W. (2023). Morphophysiological-based selection criteria for chili (*Capsicum annuum*) under drought stress during vegetative to generative phase. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 24(4), 2315–2323. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d240445>

Li, D., Long, H. yu, Zhang, S. xiang, Wu, X. ping, Shao, H. ying, & Wang, P. (2017). Effect of continuous negative pressure water supply on the growth, development and physiological mechanism of *Capsicum annuum* L. *Journal of Integrative Agriculture*, 16(9), 1978–1989. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(16\)61572-1](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(16)61572-1)

Li, H., Qin, Y., Pang, Y., Song, W., Mei, W., & Zhu, Y. (2004). *Cotton ascorbate peroxidase is involved in hydrogen peroxide homeostasis during fibre cell development*. 462–471.

Li, M., Yao, J., Guan, J., & Zheng, J. (2020). Observed changes in vapor pressure deficit suggest a systematic drying of the atmosphere in Xinjiang of China. *Atmospheric Research*, 1–50. <https://doi.org/10.1016/j.atmosres.2020.105199>

Lisar, S. Y. S., Motafakkerazad, R., Hossain, M. M., & Rahman, I. M. (2012). Water Stress in Plants: Causes, Effects and Responses. *Water Stress*, 1–15. <https://doi.org/10.5772/39363>

Liu, H., Yang, H., Zheng, J., Jia, D., Wang, J., Li, Y., & Huang, G. (2012). Irrigation scheduling strategies based on soil matric potential on yield and fruit quality of mulched-drip irrigated chili pepper in Northwest China. *Agricultural Water Management*, 115, 232–241. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2012.09.009>

Llorens, E., González-Hernández, A. I., Scalschi, L., Fernández-Crespo, E., Camañes, G., Vicedo, B., & García-Agustín, P. (2020). Priming mediated stress and cross-stress tolerance in plants: Concepts and opportunities. In *Priming-Mediated Stress and Cross-Stress Tolerance in Crop Plants*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-817892-8.00001-5>

Long, Y., & Ma, M. (2022). Recognition of Drought Stress State of Tomato Seedling Based on Chlorophyll Fluorescence Imaging. *IEEE Access*, 10, 48633–48642. <https://doi.org/10.1109/ACCESS.2022.3168862>

Luo, Y., He, C., Sophocleous, M., & Yin, Z. (2008). Assessment of crop growth and soil water modules in SWAT2000 using extensive field experiment data in an irrigation district of the Yellow River Basin. *Journal of Hydrology*, 139–156. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2008.01.003>

Macias-Bobadilla, I., Vargas-Hernandez, M., Guevara-Gonzalez, R. G., Rico-Garcia, E., Ocampo-Velazquez, R. V., & Torres-Pacheco, I. (2020). Differential Response to Water Deficit in Chili Pepper (*Capsicum annuum* L.) Growing in Two Types of Soil Under Different Irrigation Regimes. *Agriculture*, 10(9).

Madani, B., Shekari, A. M., & Imahori, Y. (2018). Physiological responses to stress. In *Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813278-4.00020-8>

Madhavi, K., Shivashankara, K. S., Geetha, G. A., & Pavithra, K. C. (2016). *Capsicum* (Hot Pepper and Bell Pepper). In *Abiotic Stress Physiology of Horticultural Crops* (pp. 151–166). Springer India. [https://doi.org/10.1007/978-81-322-2725-0\\_9](https://doi.org/10.1007/978-81-322-2725-0_9)

Maimaitiyiming, M., Ghulam, A., Bozzolo, A., Wilkins, J. L., & Kwasniewski, M. T. (2017). Early detection of plant physiological responses to different levels of water stress using reflectance spectroscopy. *Remote Sensing*, 9(7), 1–23. <https://doi.org/10.3390/rs9070745>

Mani, F. (2014). Effect of water stress on some biochemical and physiological characters of chili pepper (*Capsicum frutescens* L.). *JECET*, 4(1), 75–83.

Mardani, S., Tabatabaei, S. H., & Pessarakli, M. (2017). Physiological responses of pepper plant (*Capsicum annuum* L.) to drought stress. *Journal of Plant Nutrition*, 40(10), 1453–1464. <https://doi.org/10.1080/01904167.2016.1269342>

Mardani, S., Tabatabaei, S. H., Pessarakli, M., & Zareabyaneh, H. (2017). Physiological responses of pepper plant (*Capsicum annuum* L.) to drought stress. *Journal of Plant Nutrition*, 40(10), 1453–1464. <https://doi.org/10.1080/01904167.2016.1269342>

Mariani, L., & Ferrante, A. (2017). Agronomic management for enhancing plant tolerance to abiotic stresses—drought, salinity, hypoxia, and lodging. *Horticulturae*, 3(4). <https://doi.org/10.3390/horticulturae3040052>

Mathobo, R., Marais, D., & Steyn, J. M. (2018). Calibration and validation of the SWB model for dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.) at different drought stress levels. *Agricultural Water Management*, 202(February), 113–121. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2018.02.018>

Maurel, C., Boursiac, Y., Luu, D. T., Santoni, V., Shahzad, Z., & Verdoucq, L. (2015). Aquaporins in plants. *Physiological Reviews*, 95(4), 1321–1358. <https://doi.org/10.1152/physrev.00008.2015>

Meena, M., Divyanshu, K., Kumar, S., Swapnil, P., Zehra, A., Shukla, V., Yadav, M., & Upadhyay, R. S. (2019). Regulation of L-proline biosynthesis, signal transduction, transport, accumulation and its vital role in plants during variable environmental conditions. *Helijon*, 5(12), e02952. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02952>

Meng, Z., Duan, A., Chen, D., Dassanayake, K. B., Wang, X., Liu, Z., Liu, H., & Gao, S. (2017). Suitable indicators using stem diameter variation-derived indices to monitor the water status of greenhouse tomato plants. *PLoS One*, 12(2), e0171423. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171423>

Mignolet-Spruyt, L., Xu, E., Idänheimo, N., Hoeberichts, F. A., Mühlbock, P., Brosche, M., Van Breusegem, F., & Kangasjärvi, J. (2016). Spreading the news: Subcellular and organellar reactive oxygen species production and signalling. *Journal of Experimental Botany*, 67(13), 3831–3844. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw080>

Millan-Almaraz, J. R., Torres-Pacheco, I., Duarte-Galvan, C., Guevara-Gonzalez, R. G., Contreras-Medina, L. M., Romero-Troncoso, R. de J., & Rivera-Guillen, J. R. (2013). FPGA-based wireless smart sensor for real-time photosynthesis monitoring. *Computers and Electronics in Agriculture*, 95, 58–69. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2013.04.009>

Mosa, K. A., Ismail, A., & Helmy, M. (2017). Introduction to Plant Stresses. In *Methods Mol Biol.* (Vol. 639, pp. 1–19). [https://doi.org/10.1007/978-3-319-59379-1\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-59379-1_1)

Moshe, S. (2006). *Micro Irrigation in Arid and Semi-Arid Regions - Guidelines for Planning and Design* (I. C. on I. and D. (ICID) (Ed.)).

Munné-Bosch, S., & Villadangos, S. (2023). Cheap, cost-effective, and quick stress biomarkers for drought stress detection and monitoring in plants. *Trends in Plant Science*, 28(5), 527–536. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2023.01.004>

Navarro, J., Flores, P., Garrido, C., & Martínez, V. (2006). Changes in the contents of antioxidant compounds in pepper fruits at different ripening stages, as affected by salinity. *Food Chemistry*, 96(1), 66–73. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.01.057>

Naves, E. R., de Ávila Silva, L., Sulpice, R., Araújo, W. L., Nunes-Nesi, A., Peres, L. E. P., & Zsögön, A. (2019). Capsaicinoids: Pungency beyond Capsicum. *Trends in Plant Science*, 24(2), 109–120. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2018.11.001>

Niemczyk, M., Thomas, B. R., & Jastrzębowski, S. (2023). Strategies for difficult times: physiological and morphological responses to drought stress in seedlings of Central European tree species. *Trees*, 37(6), 1657–1669. <https://doi.org/10.1007/s00468-023-02450-0>

Oguz, M. C., Aycan, M., Oguz, E., & Poyraz, I. (2022). Drought Stress Tolerance in Plants: Interplay of Molecular, Biochemical and Physiological Responses in Important Development Stages. *Physiologia*, 2, 180–197. <https://doi.org/10.3390/physiologia2040015>

Omuto, C. T., Vargas, R. R., El Mobarak, A. M., Mohamed, N., Viatkin, K., & Yigini, Y. (2021). Mapeo de suelos afectados por salinidad - Manual técnico. In FAO. <https://doi.org/10.4060/ca9215es>

Osakabe, Y., Osakabe, K., Shinozaki, K., & Tran, L. S. P. (2014). Response of plants to water stress. *Frontiers in Plant Science*, 5(MAR), 1–8. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00086>

Padró, M. D. A., Caboni, E., Morin, K., Mercado, A., & Olalde-portugal, V. (2021). Effect of *Bacillus subtilis* on antioxidant enzyme activities in tomato grafting. *PeerJ*, 9, e10984. <https://doi.org/10.7717/peerj.10984>

Paim, B. T., Crizel, R. L., Tatiane, S. J., Rodrigues, V. R., Rombaldi, C. V., & Galli, V. (2020). Mild drought stress has potential to improve lettuce yield and quality. *Scientia Horticulturae*, 272, 109578. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109578>

Pallardy, S. (2007). Transpiration and Plant Water Balance. In *Physiology of Woody Plants* (3rd ed., pp. 325–366). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-012088765-1.50013-0>

Pathak, M. R. o., Teixeira da Silva, J. A., & Wani, S. H. (2014). Polyamines in response to abiotic stress tolerance through transgenic approaches. *GM Crops & Food*, 5(2), 87–96. <https://doi.org/10.4161/gmcr.28774>

Patil, B. L. (2020). Plant Viral Diseases: Economic Implications. In *Reference Module in Life Sciences*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.21307-1>

Petropoulos, S. A., Levizou, E., Ntatsi, G., Fernandes, Â., Petrotos, K., Akoumianakis, K., Barros, L., & Ferreira, I. C. F. R. (2017). Salinity effect on nutritional value, chemical composition and bioactive compounds content of *Cichorium spinosum* L. *Food Chemistry*, 214, 129–136. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.080>

Radanielson, A. M., Gaydon, D. S., Rahman Khan, M. M., Chaki, A. K., Rahman, M. A., Angeles, O., Li, T., & Ismail, A. (2018). Varietal improvement options for higher rice productivity in salt affected areas using crop modelling. *Field Crops Research*, 229(August), 27–36. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2018.08.020>

Raes, D., Geerts, S., Kipkorir, E., Wellens, J., & Sahli, A. (2006). Simulation of yield decline as a result of water stress with a robust soil water balance model. *Agricultural Water Management*, 81(3), 335–357. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2005.04.006>

Raja, V., Majeed, U., Kang, H., Andrabi, K. I., & John, R. (2017). Abiotic stress: Interplay between ROS, hormones and MAPKs. *Environmental and Experimental Botany*, 137, 142–157. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.02.010>

Ramegowda, V., Da Costa, M. V. J., Harihar, S., Karaba, N. N., & Sreeman, S. M. (2020). Abiotic and biotic stress interactions in plants: A cross-tolerance perspective. In *Priming-Mediated Stress and Cross-Stress Tolerance in Crop*

*Plants*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-817892-8.00017-9>

Rao, N. K. S., Shivashankara, K. S., & Laxman, R. H. (Eds.). (2016). *Abiotic Stress Physiology of Horticultural Crops*. Springer India. <https://doi.org/10.1007/978-81-322-2725-0>

Rasool, S., Mir, B. A., Rehman, M. U., Amin, I., Mir, M. U. R., & Ahmad, S. B. (2019). Abiotic Stress and Plant Senescence. In *Senescence Signalling and Control in Plants* (pp. 15–27). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813187-9.00002-0>

Ricardez-Miranda, L. E., Lagunes-Espinoza, L. C., Hernández-Nataren, D., Palma-López, J., & Conde-Martínez, F. V. (2021). Water restriction during the vegetative and reproductive stages of Capsicum annuum var. glabriusculum, and its effect on growth, secondary metabolites and fruit yield. *Scientia Horticulturae*, 285. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110129>

Rodríguez-Calzada, T., Qian, M., Strid, Å., Neugart, S., Schreiner, M., Torres-Pacheco, I., & Guevara-González, R. G. (2019). Effect of UV-B radiation on morphology, phenolic compound production, gene expression, and subsequent drought stress responses in chili pepper (*Capsicum annuum* L.). *Plant Physiology and Biochemistry*, 134(March), 94–102. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.06.025>

Rouphael, Y., De Micco, V., Arena, C., Raimondi, G., Colla, G., & De Pascale, S. (2017). Effect of *Ecklonia maxima* seaweed extract on yield, mineral composition, gas exchange, and leaf anatomy of zucchini squash grown under saline conditions. *Journal of Applied Phycology*, 29(1), 459–470. <https://doi.org/10.1007/s10811-016-0937-x>

Rouphael, Y., Petropoulos, S. A., Cardarelli, M., & Colla, G. (2018). Salinity as eustressor for enhancing quality of vegetables. *Scientia Horticulturae*, 234(January), 361–369. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.02.048>

Ruiz, E., Aldaco, R., Montemayor, A., Fortis, M., Olague, J., & Villagómez, J. (2007). Aprovechamiento y mejoramiento de un suelo salino mediante el cultivo de pastos forrajeros. *Téc Pecu Méx*, 45(1), 19–24.

Ryu, W. K., Kim, H. W., Kim, G. D., & Rhee, H. I. (2017). Rapid determination of capsaicinoids by colorimetric method. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25(4), 798–803. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.11.007>

SADER. (2021). *Mapa Agrícola de afectación por salinidad en México*. Suelos, Un Recurso Finito y Fundamental. <https://www.gob.mx/agricultura/acciones-y-programas/mapa-agricola-de-afectacion-por-salinidad-en-mexico>

Sah, S. K., Reddy, K. R., & Li, J. (2016). Abscisic acid and abiotic stress tolerance in crop plants. *Frontiers in Plant Science*, 7(MAY2016), 1–26. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00571>

Sahitya, U. L., Krishna, M. S. R., Deepthi, R., Prasad, G. S., & Kasim, D. (2018). Seed Antioxidants Interplay with Drought Stress Tolerance Indices in Chilli (*Capsicum annuum* L) Seedlings. *BioMed Research International*, 2018.

<https://doi.org/10.1155/2018/1605096>

Sahitya, U. L., Krishna, M. S. R., & Deepthi, R. S. (2018). Biochemical and physiological changes induced by water stress in hot pepper (*Capsicum annuum* L.) genotypes. *Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology*, 19(5 & 6), 179–195.

Salehi-Lisar, S. Y., & Bakhshayeshan-Agdam, H. (2016). Drought Stress in Plants: Causes, Consequences, and Tolerance. In *Drought Stress Tolerance in Plants, Vol 1* (pp. 1–16). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-28899-4\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-28899-4_1)

Sandalio, L. M., Rodríguez-Serrano, M., Romero-Puertas, M. C., & del Río, L. A. (2013). Role of Peroxisomes as a Source of Reactive Oxygen Species (ROS) Signaling Molecules. In *Subcellular Biochemistry* (pp. 231–255). [https://doi.org/10.1007/978-94-007-6889-5\\_13](https://doi.org/10.1007/978-94-007-6889-5_13)

Sanghera, G., Wani, S., Hussain, W., & Singh, N. (2011). Engineering Cold Stress Tolerance in Crop Plants. *Current Genomics*, 12(1), 30–43. <https://doi.org/10.2174/138920211794520178>

Saruyama, N., Sakakura, Y., Asano, T., Nishiuchi, T., Sasamoto, H., & Kodama, H. (2013). Quantification of metabolic activity of cultured plant cells by vital staining with fluorescein diacetate. *Analytical Biochemistry*, 441(1), 58–62. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2013.06.005>

Shahbaz, M., Mushtaq, Z., Andaz, F., & Masood, A. (2013). Does proline application ameliorate adverse effects of salt stress on growth, ions and photosynthetic ability of eggplant (*Solanum melongena* L.)? *Scientia Horticulturae*, 164, 507–511. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.10.001>

Shamya, A. M., Thriunavukkarasu, R., Joseph, J., & Aruni, W. (2020). Effect of seaweed on seed germination and biochemical constituents of *Capsicum annuum*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 29(February), 101761. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101761>

Sharma, A., Shahzad, B., Kumar, V., Kohli, S. K., Sidhu, G. P. S., Bali, A. S., Handa, N., Kapoor, D., Bhardwaj, R., & Zheng, B. (2019). Phytohormones regulate accumulation of osmolytes under abiotic stress. *Biomolecules*, 9(7). <https://doi.org/10.3390/biom9070285>

Shrivastava, P., & Kumar, R. (2015). Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 22(2), 123–131. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2014.12.001>

SIAP. (2018a). *Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. Cierre Agrícola*. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>

SIAP. (2018b). *En la agricultura, los sistemas de riego son utilizados para un aprovechamiento óptimo del agua*. <https://www.gob.mx/siap/articulos/en-la-agricultura-los-sistemas-de-riego-son-utilizados-para-un-aprovechamiento->

Silva, A. do N., Ramos, M. L. G., Ribeiro, W. Q., de Alencar, E. R., da Silva, P. C., de Lima, C. A., Vinson, C. C., & Silva, M. A. V. (2020). Water stress alters physical and chemical quality in grains of common bean, triticale and wheat. *Agricultural Water Management*, 231(January), 106023. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2020.106023>

Singh, R., & Jwa, N.-S. (2013). Understanding the Responses of Rice to Environmental Stress Using Proteomics. *Journal of Proteome Research*, 12(11), 4652–4669. <https://doi.org/10.1021/pr400689j>

Siyavula. (n.d.). *Transpiration*. [https://intl.siyavula.com/read/science/grade-10-lifesciences/support-and-transport-systems-in-plants/05-support-and-transport-systems-in-plants-03#:~:text=The%20rate%20at%20which%20transpiration,of%20stomata%20\(Figure%205.14\).](https://intl.siyavula.com/read/science/grade-10-lifesciences/support-and-transport-systems-in-plants/05-support-and-transport-systems-in-plants-03#:~:text=The%20rate%20at%20which%20transpiration,of%20stomata%20(Figure%205.14).)

SNICS. (2017). *Chile (Capsicum spp.)*. Generalidades de la Red Chile. Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas. <https://www.gob.mx/snics/acciones-y-programas/chile-capsicum-spp>

Solano-Alvarez, N., Antonio, J., Vergara-Pineda, S., & Torres-Pacheco, I. (2022). Comparative Analysis of the NDVI and NGBVI as Indicators of the Protective Effect of Beneficial Bacteria in Conditions of Biotic Stress. *Plants*, 11(7), 932. <https://doi.org/10.3390/plants11070932>.

Sudhakar, P., Latha, P., & Reddy, P. V. (2016). Photosynthetic rates. In *Phenotyping Crop Plants for Physiological and Biochemical Traits* (pp. 33–39). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804073-7.00004-1>

Sumithra, K., Jutur, P. P., Carmel, B. D., & Reddy, A. R. (2006). Salinity-induced changes in two cultivars of *Vigna radiata*: responses of antioxidative and proline metabolism. *Plant Growth Regulation*, 50(1), 11–22. <https://doi.org/10.1007/s10725-006-9121-7>

Sung, Y., Chang, Y. Y., & Ting, N. L. (2005). Capsaicin biosynthesis in water-stressed hot pepper fruits. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 46(1), 35–42. <https://doi.org/10.7016/BBAS.200501.0035>

Swamy, B. N., Hedau, N. K., Chaudhari, G. V., Kant, L., & Pattanayak, A. (2017). CMS system and its stimulation in hybrid seed production of *Capsicum annuum* L. *Scientia Horticulturae*, 222(December 2016), 175–179. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.05.023>

Taffouo, V. D., Kemdem, J., Tchiengue, L. M., Nandjou, B. A., & Akoa, A. (2009). Effects of Salinity Stress on Growth, Ions Partitioning and Yield of Some Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) Cultivars. *International Journal of Botany*, 5(2), 135–143. <https://doi.org/10.3923/ijb.2009.135.143>

Toscano, S., Ferrante, A., Leonardi, C., & Romano, D. (2018). PAL activities in asparagus spears during storage after ammonium sulfate treatments. *Postharvest Biology and Technology*, 140(November 2017), 34–41. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.02.010>

Trimble, S. (2019). *How to Analyze Photosynthesis in Plants: Methods and Tools*. CID Bio-Science. <https://cid-inc.com/blog/how-to-analyze-photosynthesis-in-plants-methods-and-tools/>

Ullah, U., Ashraf, M., Shahzad, S. M., Siddiqui, A. R., Piracha, M. A., & Suleman, M. (2016). Growth behavior of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) under drought stress in the presence of silicon and plant growth promoting rhizobacteria. *Soil and Environment*, 35(1), 65–75.

United Nations. (2019). *World Population Prospects 2019: Highlights* (Department).

United Nations. (2022). *Agriculture Drought Monitoring and Hazard Assessment using Google Earth Engine*. Office for Outer Space Affairs. <https://un-spider.org/advisory-support/recommended-practices/recommended-practice-agriculture-drought-monitoring/in-detail>

Vaahtera, L., Brosché, M., Wrzaczek, M., & Kangasjärvi, J. (2014). Specificity in ROS Signaling and Transcript Signatures. *Antioxidants & Redox Signaling*, 21(9), 1422–1441. <https://doi.org/10.1089/ars.2013.5662>

Velten, K. (2009). *Mathematical Modeling and Simulation: Introduction for Scientists and Engineers* (J. W. & Sons (Ed.)).

Verma, S., Nizam, S., & Verma, P. K. (2013). Biotic and Abiotic Stress Signaling in Plants. In *Stress Signaling in Plants: Genomics and Proteomics Perspective, Volume 1* (Issue February, pp. 25–49). [https://doi.org/10.1007/978-1-4614-6372-6\\_2](https://doi.org/10.1007/978-1-4614-6372-6_2)

Vialaret, J., Di Pietro, M., Hem, S., Maurel, C., Rossignol, M., & Santoni, V. (2014). Phosphorylation dynamics of membrane proteins from *Arabidopsis* roots submitted to salt stress. *Proteomic*, 14(9), 1058–1070. <https://doi.org/10.1002/pmic.201300443>

Wale, A., & Girmay, G. (2019). Determination of irrigation regime for hot pepper (*Capsicum annuum* L.) in dry - land areas of Wag - Himra , North Eastern Amhara , Ethiopia. *Agriculture and Environmental Science*, 4(1), 101–108.

Wang, M., Wang, Q., & Zhang, B. (2013). Evaluation and selection of reliable reference genes for gene expression under abiotic stress in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Gene*, 530(1), 44–50. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2013.07.084>

Wang, M., Zheng, Q., Shen, Q., & Guo, S. (2013). The critical role of potassium in plant stress response. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(4), 7370–7390. <https://doi.org/10.3390/ijms14047370>

Wang, Z., Li, G., Sun, H., Ma, L., Guo, Y., Zhao, Z., Gao, H., & Mei, L. (2018). Effects of drought stress on photosynthesis and photosynthetic electron transport chain in young apple tree leaves. *Biology Open*, 7(11), 1–9. <https://doi.org/10.1242/bio.035279>

Wani, S. H., & Kumar Sah, S. (2014). Biotechnology and Abiotic Stress Tolerance in Rice. *Rice Research: Open Access*, 2(2). <https://doi.org/10.4172/jrr.1000e105>

Wardlaw, I. F. (1972). Responses of Plants to Environmental Stresses. In *Science*

(Vol. 177, Issue 4051, pp. 786–786). Academic Press.  
<https://doi.org/10.1126/science.177.4051.786>

Wassie, W. A., Andualem, A. M., Molla, A. E., Tarekegn, Z. G., Aragaw, M. W., & Ayana, M. T. (2023). Growth, Physiological, and Biochemical Responses of Ethiopian Red Pepper (*Capsicum annum* L.) Cultivars to Drought Stress. *The Scientific World Journal*, 2023, 4374318. <https://doi.org/10.1155/2023/4374318>

Weng, S., Ma, J., Tao, W., & Tan, Y. (2023). Drought stress identification of tomato plant using multi-features of hyperspectral imaging and subsample fusion. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1–13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1073530>

Widuri, L. I., Lakitan, B., Sakagami, J., Yabuta, S., Kartika, K., & Siaga, E. (2020). Short-term drought exposure decelerated growth and photosynthetic activities in chili pepper (*Capsicum annuum* L.). *Annals of Agricultural Sciences*, 65(2), 149–158. <https://doi.org/10.1016/j.aoas.2020.09.002>

Xue, X., Liu, A., & Hua, X. (2009). Proline accumulation and transcriptional regulation of proline biosynthesis and degradation in *Brassica napus*. *BMB Reports*, 42(1), 28–34. <https://doi.org/10.5483/BMBRep.2009.42.1.028>

Yahia, E. M., Carrillo-íñez, A., & Barrera, G. M. (2019). Photosynthesis. In *Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables* (pp. 47–72). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813278-4.00003-8>

Yamada, M., Morishita, H., Urano, K., Shiozaki, N., Yamaguchi-Shinozaki, K., Shinozaki, K., & Yoshioka, Y. (2005). Effects of free proline accumulation in petunias under drought stress. *Journal of Experimental Botany*, 56(417), 1975–1981. <https://doi.org/10.1093/jxb/eri195>

Yancey, P. H. (2005). Organic osmolytes as compatible, metabolic and counteracting cytoprotectants in high osmolarity and other stresses. *Journal of Experimental Biology*, 208(15), 2819–2830. <https://doi.org/10.1242/jeb.01730>

Yang, X., Lu, M., Wang, Y., Wang, Y., Liu, Z., & Chen, S. (2021). Response Mechanism of Plants to Drought Stress. In *Horticulturae* (Vol. 7, Issue 3). <https://doi.org/10.3390/horticulturae7030050>

Yin, Y.-X., Wang, S.-B., Xiao, H.-J., Zhang, H.-X., Zhang, Z., Jing, H., Zhang, Y.-L., Chen, R.-G., & Gong, Z.-H. (2014). Overexpression of the CaTIP1-1 Pepper Gene in Tobacco Enhances Resistance to Osmotic Stresses. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(11), 20101–20116. <https://doi.org/10.3390/ijms151120101>

Yin, Y. X., Wang, S. Bin, Zhang, H. X., Xiao, H. J., Jin, J. H., Ji, J. J., Jing, H., Chen, R. G., Arisha, M. H., & Gong, Z. H. (2015). Cloning and expression analysis of CaPIP1-1 gene in pepper (*Capsicum annuum* L.). *Gene*, 563(1), 87–93. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2015.03.012>

Zhani, K., Mariem, B. F., Fardaous, M., Cherif, H., Zhani, K., Mariem, B. F., Fardaous, M., & Cherif, H. (2012). Impact of salt stress (NaCl) on growth, chlorophyll content and fluorescence of Tunisian cultivars of chili pepper (*Capsicum frutescens* L.). *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, 8(4),

236–252.

Zhao, C. X., Shao, H. B., & Chu, L. Y. (2008). Aquaporin structure-function relationships: Water flow through plant living cells. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 62(2), 163–172. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2007.10.015>

Zhao, Y., Mao, X., Shunkla, M. K., & Sien, L. (2020). Modeling Soil Water – Heat Dynamic Changes in Seed-Maize Fields under Film Mulching and Deficit. *Water*, 12. <https://doi.org/10.3390/w12051330>

Zhou, Z. J., Su, P. X., Shi, R., & Xie, T. T. (2017). Light use efficiency of plants and the environmental impact factors in different alpine ecosystems. *Chinese Journal of Ecology*, 36(6), 1570.

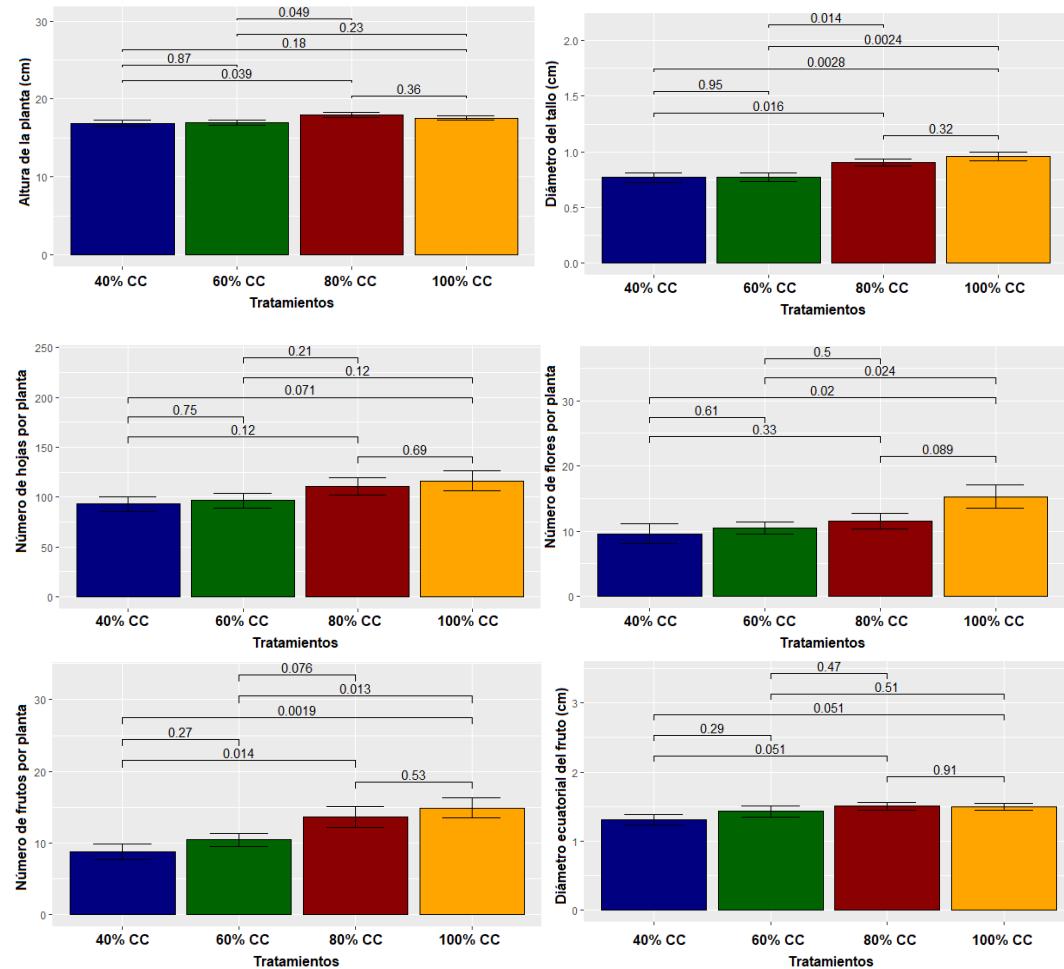
Zhu, J. K. (2016). Abiotic Stress Signaling and Responses in Plants. *Cell*, 167(2), 313–324. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.08.029>

Zia, S., Romano, G., Spreer, W., Sanchez, C., Cairns, J., Araus, J. L., & Müller, J. (2013). Infrared Thermal Imaging as a Rapid Tool for Identifying Water-Stress Tolerant Maize Genotypes of Different Phenology. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 199(2), 75–84. <https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.2012.00537.x>

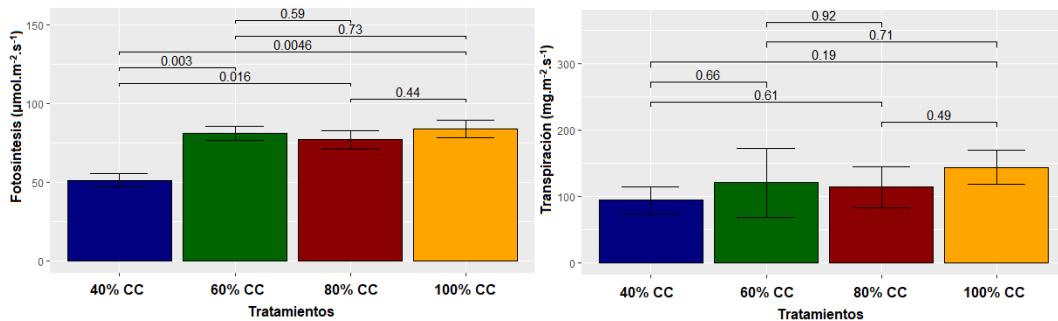
## XII. Anexos

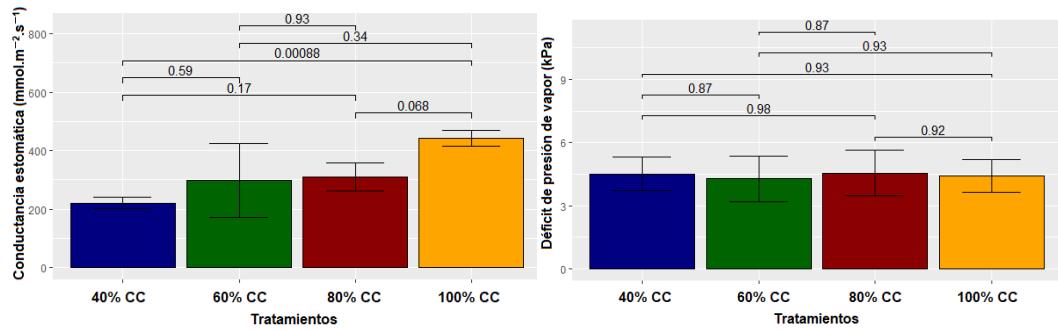
### 12.1. Estrés por sequía

#### 12.1.1. Valores de p obtenidos para las variables morfológicas

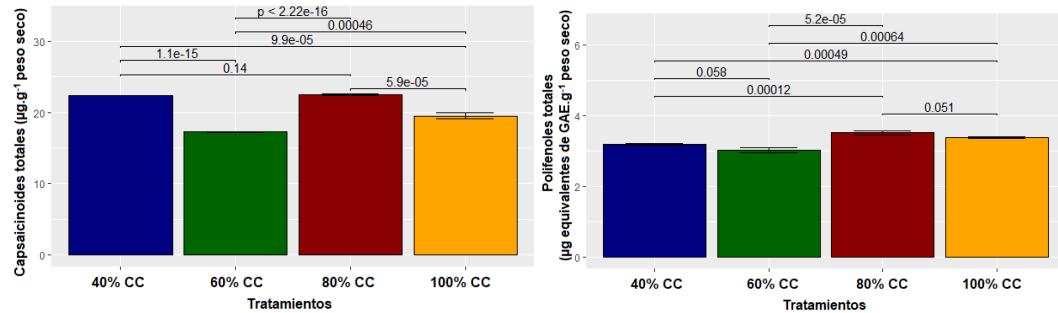


#### 12.1.2. Valores de p obtenidos para las variables fisiológicas

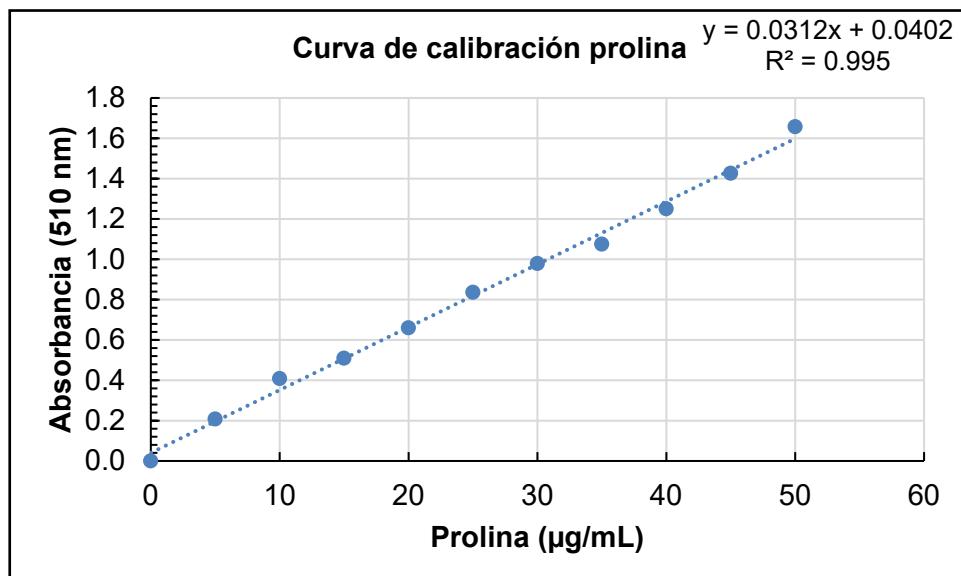




### 12.1.2. Valores de p obtenidos para las variables bioquímicas en frutos

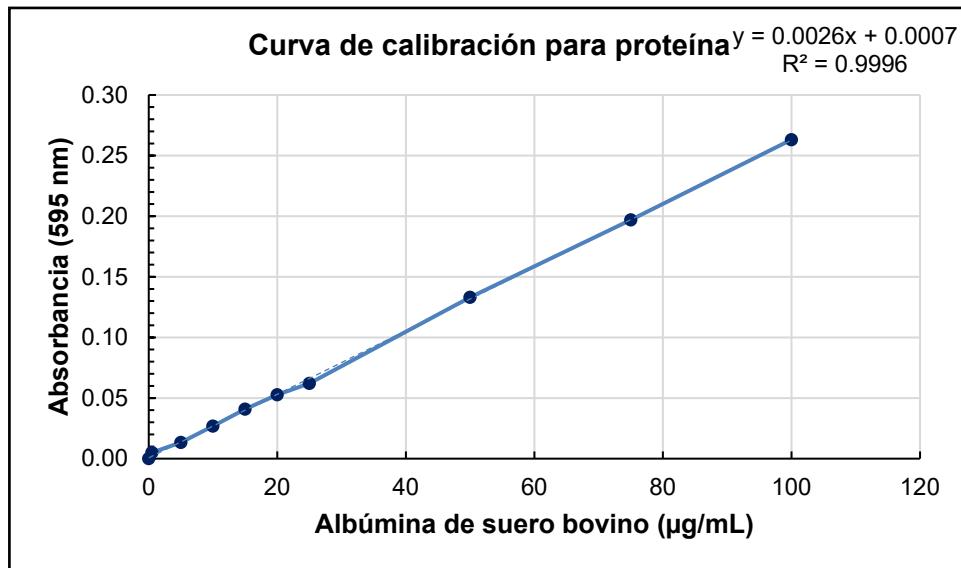


### 12.1.3. Curva de calibración para prolina



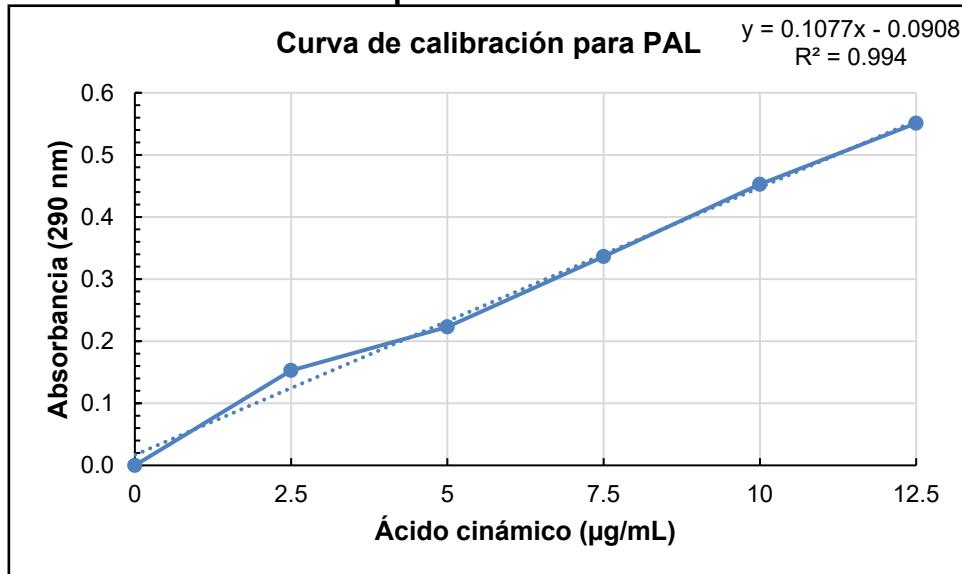
#### 12.1.4.

#### Curva de calibración para proteína



#### 12.1.5.

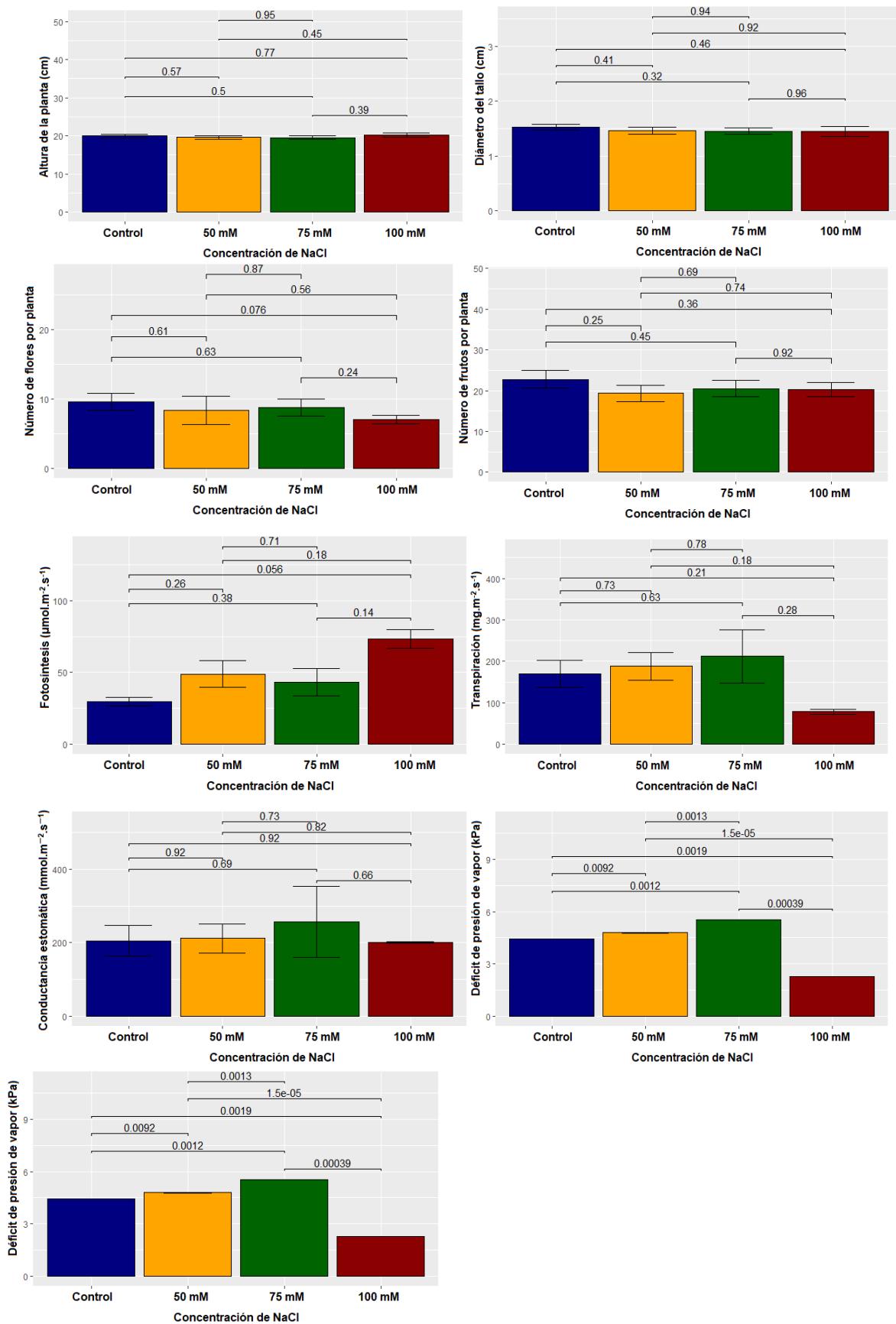
#### Curva de calibración para PAL



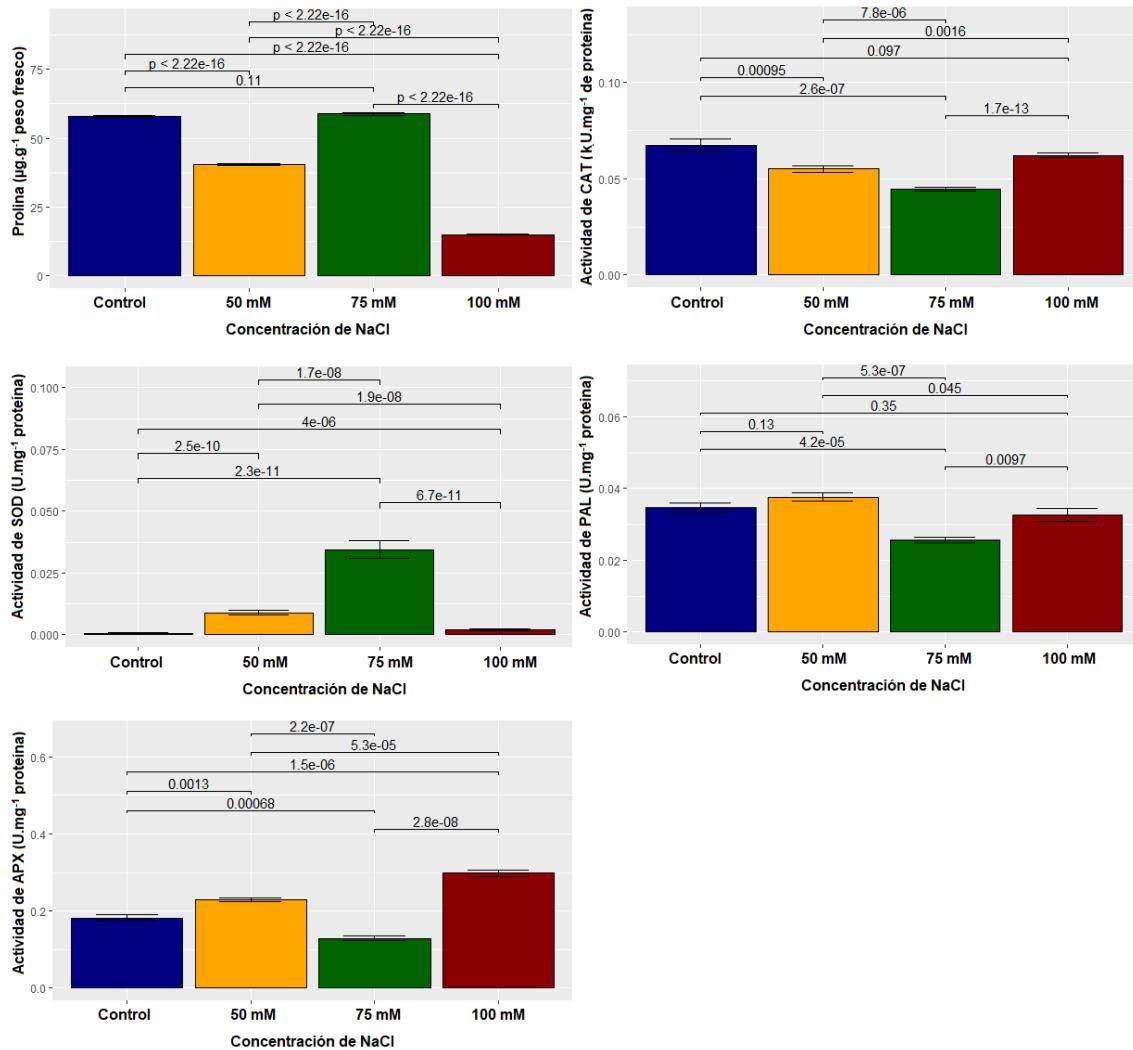
### 12.2. Estrés por salinidad

#### 12.2.1.

#### Valores de $p$ obtenidos para las variables morfofisiológicas

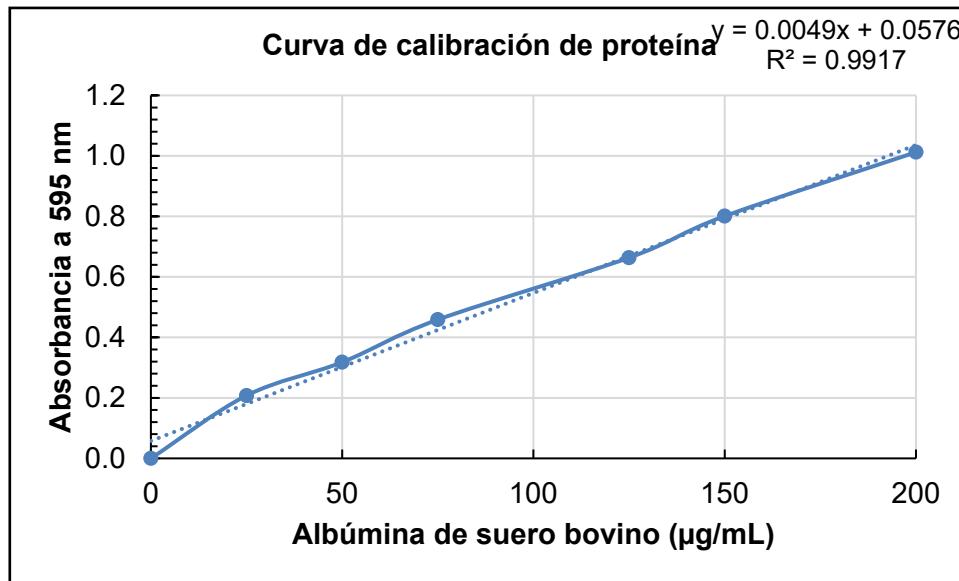


## 12.2.2. Valores de p obtenidos para las variables bioquímicas en hojas y frutos



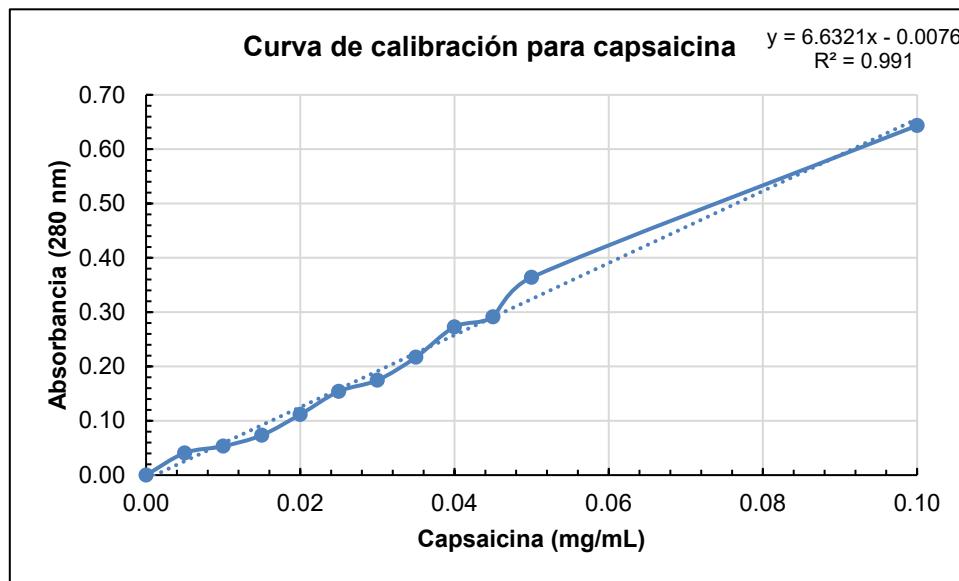
### 12.2.3.

### Curva de calibración para determinación de proteína

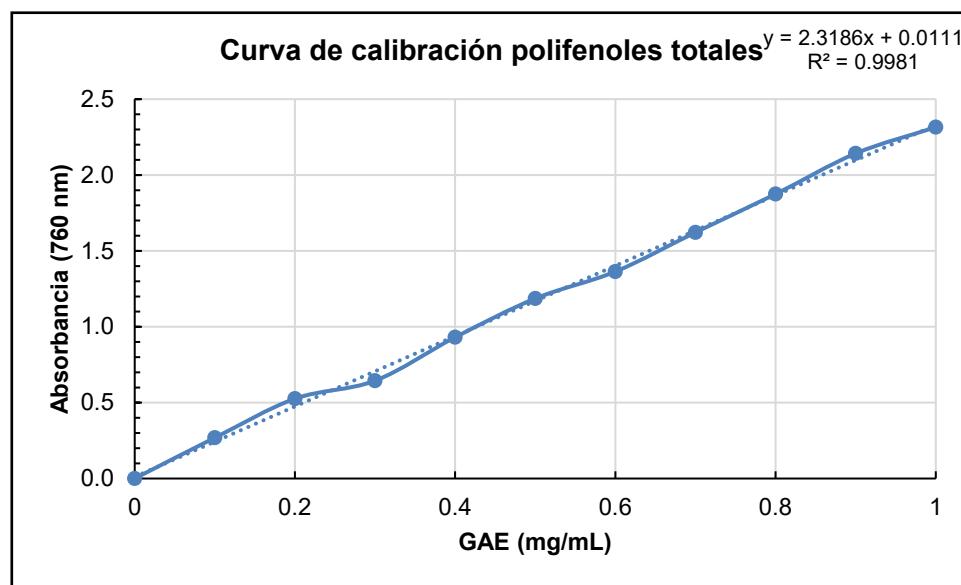


### 12.2.4.

### Curva de calibración de capsaicina para la determinación de capsaicinoides totales



**12.2.5. Curva de calibración de ácido gálico para determinación de polifenoles totales**



**12.2.6. Curva de calibración de quercetina para determinación de flavonoides totales**

