



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ingeniería.
Licenciatura en Ingeniería Agroindustrial

“Curvas de fotosíntesis de un cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum*) bajo estrés causado por elicitores”

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de Licenciatura en Ingeniería Agroindustrial

Presenta:

Juan Antonio Alvarez Sinicio

Dirigido por:

Dr. Enrique Rico García

Dr. Enrique Rico García

Presidente

Firma

Dr. Irineo Torres Pacheco

Secretario

Firma

Dr. Luis Miguel Contreras Medina

Vocal

Firma

Dr. Ramón Gerardo Guevara Gómez

Suplente

Firma

Dr. Martín Genaro Soto Zarazúa

Suplente

Firma

Dr. Manuel Toledano Ayala
Director de la Facultad

Dra. María Guadalupe Flavia Loarca Piña
Director de Investigación y Posgrado

Centro Universitario
Querétaro, Qro.
2020

RESUMEN

La aplicación de factores modificadores del metabolismo (elicitores) sobre el cultivo ha tenido como objetivo principal prender el sistema inmune de las plantas para inducir la producción de metabolitos secundarios, que presentan actividad biológica tales como: antioxidantes, antimutagénicos, antiinflamatorios, entre otros, que los convierte en compuestos con actividad nutracéutica. Hoy sabemos que el estrés causado por estas aplicaciones normalmente incrementa la producción de metabolitos secundarios y que afecta la actividad del metabolismo primario, en algunos casos se reduce el tamaño de las plantas e incluso disminuyendo su producción final, sin embargo, también se reportan resultados donde la actividad fotosintética aumenta, teniendo entonces un contrasentido que requiere ser evaluado cuantitativamente. El objetivo de este trabajo de investigación es la determinación del impacto que la aplicación de elicitores: peróxido de hidrógeno y ácido salicílico tienen sobre el metabolismo primario del cultivo de jitomate a través de su actividad fotosintética, como variable dependiente. Las mediciones de absorción de CO₂ se hicieron en una cámara de policarbonato en forma de prisma cuadrangular, con sensores de humedad, temperatura, CO₂ y radiación. Se hicieron 12 tratamientos, 6 para la primera etapa (T1, T2, T3, T4, T5 y T6) y 6 para la etapa de fructificación (T7, T8, T9, T10, T11 y T12), cada uno durante 15min y con su respectivo control. Como elicitores se aplicaron: ácido salicílico en concentraciones de 0.1, 0.5 y 1.0 µM y peróxido de hidrógeno en concentraciones de 2, 20 y 200 mM para la vía aérea y radicular. Las condiciones ambientales se establecieron mediante equipos de calefacción, humidificación, enfriamiento y lámparas de alta presión de sodio. También se determinó el área foliar por medio de fotografías digitales. Finalmente se realizó una prueba de medias de Tukey ($\alpha=0.05$). Los resultados no muestran una tendencia definida, sin embargo sugieren que las concentraciones bajas de los elicitores, producen un efecto de eustrés mientras que a altas concentraciones producen distrés. Concluyendo así que la aplicación de elicitores en los cultivos, modifican la fotosíntesis del mismo.

(**Palabras clave:** fotosíntesis, elicitor, metabolismo).

SUMMARY

The application of metabolism modifying factors (elicitors) in crops has as main objective to turn on the immune system/secondary of the plants to induce the production of secondary metabolites, which present biological activity such as: antioxidants, antimutagenic, anti-inflammatory, among others, that converts them into compounds with nutraceutical activity. Today we know that the stress caused by these applications usually increases the production of secondary metabolites and that it affects the activity of the primary metabolism, in some cases the size of the plants is reduced and even diminishing its final production, however, results are also reported where the photosynthetic activity increases, having then a contradiction that needs to be evaluated quantitatively. The objective of this research work is to determine the impact that the application of elicitors: hydrogen peroxide and salicylic acid have on the primary metabolism of the tomato crop through its photosynthetic activity, as a dependent variable. The CO₂ absorption measurements were made in a polycarbonate chamber in the form of a quadrangular prism, with humidity, temperature, CO₂ and radiation sensors. 12 treatments were made, 6 for the first stage (T1, T2, T3, T4, T5 and T6) and 6 for the fruiting stage (T7, T8, T9, T10, T11 and T12), each for 15 minutes and with its respective control. As elicitors were applied: salicylic acid in concentrations of 0.1, 0.5 and 1.0 μM and hydrogen peroxide in concentrations of 2, 20 and 200 mM for the airway and root. The environmental conditions were established by means of heating, humidification, cooling and sodium high pressure lamps. The leaf area was also determined by means of digital photographs. Finally, a Tukey test was performed ($\alpha = 0.05$). The results don't show a definite trend, however they suggest that the low concentrations of the elicitors produce an eustress effect while at high concentrations they produce distress. Concluding that the application of elicitors in crops, modify/increase the photosynthesis of it.

(Key words: photosynthesis, elicitor, metabolism).

A mis papás, hermana y profesores.

Pero en especial está dedicada a un excelente tutor

Dr. Enrique Rico García

porque nunca me dejó solo...

Gracias.

...

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por hacer posible mi existencia, por guiarme por el camino del bien y darme fuerzas necesarias para poder realizar el presente trabajo y así cumplir una más de mis metas como profesionista.

Agradezco a la Universidad Autónoma de Querétaro que me dio la oportunidad de seguir adelante y crecer profesionalmente desde el bachillerato hasta la licenciatura, siendo para mí un orgullo pertenecer a esta honorable institución.

A mi director de tesis Dr. Enrique Rico García, por su apoyo incondicional, por compartir sus conocimientos, por enriquecer mi persona y este trabajo con sus enseñanzas, por toda la paciencia que me tuvo y por el apoyo brindado en la realización del presente trabajo de investigación.

A la Dra. Rosalía Virginia Ocampo Velázquez, por su disposición para la revisión del escrito y consejos para su elaboración.

A mi sinodal Dr. Genaro Martín Soto Zarazúa, por las aportaciones realizadas desde el inicio de este trabajo de investigación.

A mi sinodal Dr. Luis Miguel Contreras Medina, por su apoyo y facilitación de equipo y laboratorio para realizar parte de este trabajo.

A mi sinodal M. C. Daniel Arriaga Madrid por el apoyo incondicional en la parte experimental, adecuación del área de trabajo y por la facilitación de los insumos para realizar este experimento.

A mi sinodal Dr. Ramón Gerardo Guevara Gómez por su asesoría en el experimento y consejos para su elaboración.

Al M.C. Samuel López Tejeida por apoyarme con la primera instalación eléctrica del área de experimentación.

A mis compañeros de clase, Adriana, Martín, Elena, Roberto, Pepe por estar desde el principio y por haber compartido conmigo esta experiencia.

A mis padres, a quienes les debo lo que soy ahora y por lo más grande que me han dado: “la vida”, por continuar apoyándome día con día en las decisiones que tomo y por caminar a mi lado en los buenos y malos momentos.

A mi hermana, por su apoyo y por ser mi motivo de inspiración para seguir superándome día con día, a ti hermanita gracias por estar ahí cerca de mí.

Dirección General de Bibliotecas UAQ

CONTENIDO

I. INTRODUCCIÓN.....	11
II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA Y ANTECEDENTES.....	14
2.1 Necesidad de aumentar la producción agrícola.....	14
2.2 Importancia de la producción de alimentos bajo condiciones controladas de Invernadero.....	15
2.3 Producción de hortalizas en Invernadero.....	15
2.4 El clima en el invernadero.....	16
2.5 Radiación solar.....	16
2.6 Temperatura.....	17
2.7 Humedad Relativa.....	17
2.8 Dióxido de carbono.....	18
2.9 La Hormesis de las plantas y su importancia en la producción de alimentos.....	18
2.10 Aplicación de elicitores en la agricultura.....	21
2.11 Fotosíntesis.....	24
2.12 Medición de fotosíntesis del follaje de las plantas.....	25
2.13 El cultivo del tomate.....	25
2.14 Requerimientos del cultivo.....	26
III. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	27
3.1 Hipótesis.....	27
3.2 Objetivo general.....	27
3.3 Objetivos específicos.....	27
IV. METODOLOGIA	28
4.1 Ubicación del área de estudio.....	28

4.2 Materia vegetal.....	29
4.3 Cámara de monitoreo de CO₂.....	30
4.4 Pruebas de funcionamiento.	35
4.5 Modificación de condiciones ambientales.	35
4.6 Diseño experimental.....	36
4.7 Monitoreo del consumo de CO₂.....	37
4.8 Medición de superficie foliar.	38
4.9 Determinación de consumo de CO₂ y fotosíntesis.	39
4.10 Segundo experimento.	39
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	41
5.1 Humedad relativa respecto al tiempo dentro de la cámara de monitoreo.	41
5.2 Promedio de superficie foliar.	41
5.3 Actividad fotosintética en cultivo de tomate elicitado con peróxido de hidrógeno y ácido salicílico en aplicaciones foliares.	43
5.4 Actividad fotosintética en cultivo de tomate elicitado con peróxido de hidrógeno y ácido salicílico en aplicaciones radiculares.	44
5.5 Actividad fotosintética en cultivo de tomate elicitado con ácido salicílico aplicado foliarmente con atmósfera enriquecida (CO₂ a 1200 ppm).	46
VI. CONCLUSIÓN.....	48
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1. La inducción de hormesis a través de inductores de origen biótico en plantas.	20
Figura 4.1. Ubicación geográfica del sitio en donde se llevó a cabo la investigación.	28
Figura 4.2. Fotografía del invernadero donde se llevó a cabo el experimento.	29
Figura 4.3. Fotografía del cultivo utilizado para realizar el experimento.	30
Figura 4.4. Fotografía de la cámara climática externa (C2).	31
Figura 4.5. Disposición experimental para la medición de fotosíntesis.	32
Figura 4.6. Aparato portátil de medición temperatura, presión, humedad relativa.	33
Figura 4.7. Sensor de CO ₂ : Marca Almemo.	34
Figura 4.8. Sensor de Temperatura / Humedad Relativa / Presión Atmosférica: Marca Almemo.	34
Figura 4.9. Esquema de la distribución de los equipos de humidificación y calefacción/enfriador.	35
Figura 4.10. Esquema de la toma de fotografías digitales para medir superficie total de la planta.	37
Figura. 4.11. Análisis de superficie foliar mediante fotografías digitales.	38
Figura 5.1. Promedio de superficie foliar en metros cuadrados (m ²) para cada uno de los elicitores en sus diferentes concentraciones.	40
Figura 5.2. Aplicación foliar de Peróxido de Hidrógeno.	41
Figura 5.3. Aplicación foliar de Ácido Salicílico.	42
Figura 5.4. Aplicación radicular de Peróxido de Hidrógeno.	43
Figura 5.5. Aplicación radicular de Ácido Salicílico.	44
Figura 5.6. Aplicación foliar de Ácido Salicílico.	45

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 4.1. Solución nutritiva durante el crecimiento de la planta.	31
Tabla 4.2. Tratamientos en la etapa de floración y fructificación, la humedad relativa inicial para todos los tratamientos fue de 40%, aproximadamente.	36
Tabla 4.3. Tratamientos en la etapa de crecimiento.	39

Dirección General de Bibliotecas UAQ

I. INTRODUCCIÓN

El tomate (*Solanum lycopersicum*) es de los productos hortícolas de mayor importancia a nivel mundial, cuenta con niveles importantes de exportación aportando alrededor de un 35% de la producción de México al mercado de Estados Unidos (USDA, 2015). En México, el tomate es una de las especies hortícolas más importantes de nuestro país debido al valor de su producción y a la demanda de mano de obra que genera. Esta hortaliza mantiene su importancia en el comercio exterior agropecuario del país, mientras continúa registrando un dinamismo sobresaliente. En 2015 fue el principal producto primario en cuanto al valor de las exportaciones, que creció a una tasa promedio anual de 6.5 por ciento, mientras que el volumen lo hizo a una tasa promedio anual de 4.7 por ciento durante la última década. El volumen exportado, de 1.43 millones de toneladas, fue equivalente al 53.3 por ciento de la producción nacional de esta hortaliza en 2015, y el 99.3 por ciento de las ventas de tomate mexicano se destinó a Estados Unidos (FIRA, 2016).

La necesidad de incrementar los rendimientos de los cultivos en los sistemas agrícolas, ha causado que se empleen diversas técnicas para determinar qué cantidad de CO₂ es consumida por el cultivo del tomate a distintas condiciones ambientales como intensidad de luz, temperatura, humedad relativa y concentración de CO₂, técnicas útiles para hacer más eficiente el uso de este nutriente en los invernaderos y del mismo modo medir la tasa fotosintética de los cultivos (Arellano, 2017).

La utilización de estrategias para la producción de metabolitos secundarios requiere la determinación de las condiciones de producción óptimas, así como el empleo de metodologías como la ingeniería genética y/o la elicitación con el fin de incrementar la producción de los metabolitos de interés. Sin embargo, dificultades asociadas con el escalado, han hecho que la utilización comercial de esta tecnología esté aún limitada a unos pocos procesos (Zabala *et al.*, 2009).

La elicitación de una especie para la obtención de un metabolito particular, requiere la determinación de la dosis óptima y el tiempo adecuado de aplicación del elicitor, así como la respuesta en el tiempo del cultivo y los efectos combinados de distintos elicitores. Para determinar la dosis óptima del elicitor que maximiza la producción del metabolito de interés, se debe evaluar el efecto de la concentración de éste sobre el crecimiento y la producción. En general los elicitores inhiben el crecimiento, debido probablemente a que en su presencia las células activan mecanismos de defensa desviando los nutrientes y la energía hacia el metabolismo secundario (Thanh *et al.*, 2005; Zhao *et al.*, 2004).

En cuanto al efecto sobre la producción de metabolitos secundarios, se ha encontrado que hay un incremento en ésta a medida que aumenta la concentración del elicitor hasta un valor máximo, después del cual decrece nuevamente, probablemente por la saturación de los receptores o por que dicha molécula puede ser tóxica para la célula. Estos efectos han sido estudiados en diferentes especies, en las que se muestra un incremento en la producción de metabolitos como resultado del proceso de elicitación (Zabala *et al.*, 2009).

El tiempo de aplicación del elicitor al cultivo es importante, ya que los efectos pueden variar dependiendo de la fase de crecimiento al momento de aplicar el tratamiento (Zhao *et al.*, 2005). Además es importante estudiar el comportamiento del cultivo con el tiempo, ya que el incremento en la productividad se observa cierto tiempo después de la adición del elicitor (Gala *et al.*, 2005, Sánchez *et al.*, 2005).

Para unificar conceptos en este sentido, sería necesario llevar a cabo una experimentación evaluando las curvas dosis-respuesta del inductor para determinar los efectos horméticos de estos compuestos. Por lo tanto, está claro que los estímulos leves activan la defensa de la planta provocando una situación de eustrés usando un inductor. El estrés que enfrentan las plantas puede tener un origen biótico o abiótico que provoca un aumento de los metabolitos para hacer frente al estrés (Tierranegra-García *et al.*, 2011; Mejía-Teniente *et al.*, 2013; Baenas *et al.*, 2014; Liu *et al.*, 2016); sin embargo, cuando un individuo se alimenta de una "planta

estresada" es bueno para la salud, esto es conocido como "xenohormesis" (Hooper *et al.*, 2010).

El manejo de la hormesis puede aumentar el potencial xenométrico de los cultivos debido a que la planta posee receptores para patrones moleculares (MP) de diferente origen como patrones moleculares asociados a microbios (MAMP), patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP), patrones moleculares asociados a daños (DAMP) y patrones moleculares asociados a herbívoros (HAMP) que potencialmente activan las vías de metabolitos secundarios. Se considera que el manejo adecuado de este fenómeno será de gran importancia debido al escenario de cambio climático para la agricultura (Vargas-hernandez *et. al.*, 2017).

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA Y ANTECEDENTES

2.1 Necesidad de aumentar la producción agrícola.

En el futuro, la demanda de alimentos será enorme considerando el incremento de la población y el consumo per cápita de alimentos; esto sugiere que los rendimientos de los cultivos necesitan incrementarse para abastecer la gran demanda que se espera. Desde la segunda mitad del siglo XX, los rendimientos de los cultivos han sido mejorados mediante el desarrollo de plaguicidas, la aplicación de fertilizantes, el mejoramiento genético y la adaptación climática de los cultivos, por lo que en los últimos años todos estos aspectos y técnicas se han optimizado o están cerca de optimizarse a fin de incrementar los rendimientos totales de los cultivos. Cabe mencionar que, en las últimas décadas, se han hecho estudios que demuestran que el rendimiento de la mayoría de los cultivos está directamente relacionado con su capacidad para producir biomasa, por lo que se ha puesto especial atención en la fotosíntesis, proceso natural por el que las plantas producen biomasa a partir de energía lumínica, agua, dióxido de carbono y algunos minerales. A consecuencia, se han estudiado los principales factores que influyen directamente en el incremento de la fotosíntesis en las plantas, éstos son, la radiación solar, la temperatura, la humedad relativa, la concentración de dióxido de carbono (CO₂) en el aire y la cantidad de ribulosa-2,5-bifosfato-carboxilasa (rubisco) presente en las hojas principalmente (Murchie *et al.*, 2009).

Entre estos factores, destaca la concentración de CO₂ en el aire, pues se ha demostrado que la fotosíntesis puede aumentar significativamente cuando los cultivos se desarrollan en ambientes con elevadas concentraciones de CO₂. Esta técnica ha demostrado incrementos por más del 100% en las producciones agrícolas (Murchie *et al.*, 2009).

2.2 Importancia de la producción de alimentos bajo condiciones controladas de Invernadero.

El sistema de cultivos que se han venido desarrollando bajo invernadero tienen como propósito independizarse en lo posible de factores climáticos externos, sobre todo lluvia, temperatura y humedad relativa (Jaramillo, 2009).

Con el uso de invernaderos, accesorios y otras adaptaciones climáticas, se trata de optimizar la productividad del sistema de cultivo, facilitar la programación de las cosechas, optimizar la calidad de los productos y minimizar la incidencia de plagas y enfermedades (Martínez, 2001). El desarrollo vegetativo del tomate bajo invernadero es de 80 a 90 días edad en la que se inicia su cosecha, la cual se extiende hasta los 150 a 180 días de acuerdo con el manejo agronómico que se le dé, obteniéndose en promedio dos cosechas por año (Ubaque *et al.*, 2002).

Las mejoras tecnológicas de los cultivos se ven representadas en la producción bajo invernadero, implementación de estrategias de manejo integrado de plagas, uso de buenas prácticas agrícolas, acatamiento de los estándares fitosanitarios para exportación, entre otros (Casierra-Posada *et al.*, 2007).

2.3 Producción de hortalizas en Invernadero.

Los invernaderos son estructuras utilizadas en la agricultura para proteger a los cultivos, en los cuales se llevan a cabo un cierto control del medio edafoclimático alterando sus condiciones (suelo, temperatura, radiación solar, viento, humedad y composición atmosférica). Mediante estas técnicas de protección se cultivan plantas modificando su entorno natural para prolongar el periodo de cosecha, alterar los ciclos convencionales, aumentar los rendimientos y mejorar su calidad, estabilizar las producciones y disponer de productos cuando la producción al aire libre se encuentra limitada. Entonces, el objetivo genérico del cultivo de hortalizas en invernadero es modificar el entorno natural mediante técnicas diversas, para alcanzar la óptima productividad de los cultivos (Castilla, 2005).

Satisfacer a un mercado de consumidores exigentes, poco fieles, bien informados y muy interesados en la calidad, a precios competitivos. La producción de alimentos bajo condiciones controladas aporta independencia de las condiciones climáticas externas, viento, lluvia, frío, radiación, etc. Capacidad de control, posibilidad de extender la producción todo el año, más productividad, calidad y seguridad alimentaria, posibilidad de usar suelos degradados o improductivos, mayor eficiencia en el uso de recursos (suelo, agua, fertilizantes, energía, mano de obra, etc.), más eficacia en el control de plagas y enfermedades, beneficios sociales como trabajo más estable a lo largo del año, mayor beneficio económico (Jerónimo, 2017).

2.4 El clima en el invernadero.

En el interior del invernadero, los factores radiación, temperatura y composición de la atmósfera son modificados generando un microclima distinto al local. Las modificaciones dependen esencialmente de la naturaleza y propiedades del material de cerramiento, de las condiciones de renovación de aire, de la forma, dimensiones y orientación del invernadero, de la cubierta vegetal presente y de las posibilidades de evaporación del suelo y de la cubierta. Este microclima no es uniforme y varía desde el centro a los bordes del invernadero, desde el suelo al techo y desde los límites de la cubierta vegetal a su interior. Un invernadero normalmente contiene un cultivo que se riega y su suelo está húmedo. Un invernadero vacío y seco no tiene más interés que el teórico, a efectos de estudio, pero no es representativo de condiciones normales (Castilla, 2005).

2.5 Radiación solar.

Las condiciones de radiación solar en invernadero son muy importantes desde el punto de vista productivo, no solo cuantitativamente sino cualitativamente. La primera alteración que genera el invernadero sobre los parámetros micro climáticos es una reducción de radiación solar. Las características radiométricas de la cubierta del invernadero pueden modificar significativamente la calidad de la

radiación afectando a los cultivos, principalmente en cuanto a la eficiencia de uso de la radiación y a sus efectos fotomorfogénicos, e influyendo sobre los insectos y microorganismos del invernadero (Baille, 1999).

A nivel foliar, se ha definido el “nivel de saturación de radiación” a partir del cual los incrementos de radiación no conllevan aumentos paralelos de fotosíntesis. Esta situación puede producirse en un invernadero durante los meses de alta radiación y a las horas centrales del día, pero solamente en las hojas de los estratos superiores del cultivo sometidas a mayor radiación, mientras que las hojas de estratos inferiores reciben mucha menos radiación y están lejos del nivel de saturación (Castilla, 2007).

2.6 Temperatura.

En un invernadero sin calefacción la principal fuente de calor durante el día es la radiación solar, parte de la cual es almacenada en el suelo. Durante la noche, la energía procede principalmente del suelo, en forma de radiación infrarroja de onda larga (Castilla, 2007).

La temperatura del aire dentro del invernadero es el resultado del balance energético del abrigo. El efecto invernadero tiene generalmente dos consecuencias: 1) De noche, debido a la limitación de pérdidas por radiación infrarroja, las temperaturas mínimas son similares o ligeramente superiores, de 1 a 3°C más altas que en el exterior. 2) De día, debido a la trampa de calor y a la reducción de intercambios convectivos, la temperatura del aire dentro del invernadero es mayor que al aire libre, pudiendo ser excesiva con alta radiación si no se ventila eficientemente. (Castilla, 2007).

2.7 Humedad Relativa.

La contribución más importante a los intercambios de vapor de agua en un invernadero la efectúa la transpiración del cultivo, aunque también tienen influencia la evaporación de agua desde el suelo húmedo, si se produce, y la concentración

del vapor de agua en las diversas superficies del invernadero al enfriarse (Day *et al.*, 1999).

La transpiración de agua por el cultivo tiene gran incidencia en la higrometría del aire. Un cultivo desarrollado evapora agua activamente, sombrea el suelo y limita el calentamiento del invernadero de día. Un invernadero sin cultivo y sin riego estará mucho más caliente en un día soleado y las variaciones día/noche de temperatura y humedad relativa serán mayores (Castilla, 2005).

2.8 Dióxido de carbono.

La ventilación, la fotosíntesis, la respiración de las plantas y la generación de CO₂ en el suelo influyen en el contenido de CO₂ del aire del invernadero. De noche, por acumulación de CO₂ de la respiración de las plantas, la tasa es superior a la del aire exterior. De día, debido a la fotosíntesis, el CO₂ baja respecto al valor normal exterior. Con invernadero cerrado, en día soleado, puede bajar de 200 ppm, siendo limitante para la producción. El objetivo de la ventilación es evitar reducciones de CO₂ superiores a 30 ppm, respecto al contenido normal del aire (350 ppm). La ventilación para reducir temperatura que suele tener, al menos, tasas de 20 a 30 renovaciones por hora suele ser suficiente para mantener niveles de CO₂ adecuados (Lorenzo, 1997).

2.9 La Hormesis de las plantas y su importancia en la producción de alimentos.

Se ha establecido que en las plantas el desafío con diferentes niveles de estrés constituye un proceso de adaptación, teniendo reminiscencia con el fenómeno de hormesis. Hormesis, en toxicología, se define como una respuesta bifásica a un compuesto tóxico (estresante), que a dosis bajas induce un efecto beneficioso y en dosis altas produce un efecto tóxico. Sin embargo, a nivel fisiológico, esto puede traducirse como una respuesta adaptativa de un organismo a un nivel bajo de factor de estrés, acompañado de una sobrecompensación,

cuando se ha interrumpido el reajuste de la homeostasis (Calabrese *et al.*, 2007; Mattson, 2008; Calabrese, 2009).

Esto permite que el organismo se adapte a su nuevo entorno, un factor clave en el proceso evolutivo. Los factores responsables de la inducción de la hormesis se conocen como factores de estrés. Este estrés puede establecerse como “eustrés” (estrés benéfico) si el efecto es similar al efecto hormético en dosis bajas de una toxina, o “distrés” (estrés perjudicial) si el nivel de éste genera un daño irreversible o negativo en el planta (Hideg *et al.*, 2013) tal como se muestra en la figura (Figura 2.1) “eustrés” (estrés benéfico) representado con línea punteada y “distrés” (estrés perjudicial) representado con línea sólida.

El nivel de esfuerzo o angustia hacia el mismo factor (por ejemplo, un bioestimulante) no siempre es el mismo debido al proceso de adaptación de las plantas, por lo tanto, es importante tener en cuenta estos términos cuando se habla de hormesis para establecer una diferencia estricta entre dosis bajas y dosis altas de un factor hormético, eso se considera un agente potencialmente tóxico que altera la homeostasis, y el efecto hormético se puede observar como un proceso reparador que sobrepasa levemente o modestamente el nivel homeostático original (Calabrese *et al.*, 2007).

Actualmente, hay muchos estudios sobre el efecto de los elicitores bióticos en las plantas. Sin embargo, en estos estudios se necesitan más dosis para ser evaluadas con el fin de observar una respuesta a la dosis hormética como en los estudios de toxicología (Figura 2.1) (Calabrese *et al.*, 2005; Mattson, 2008).

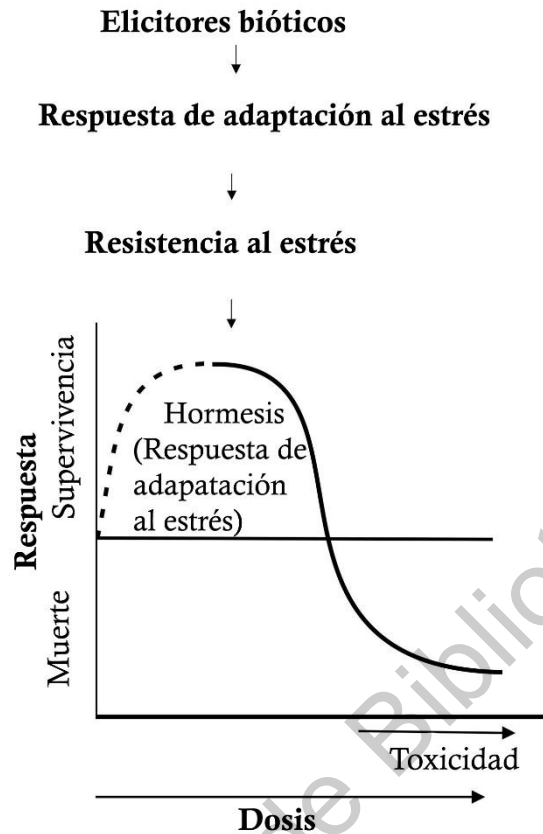


Figura 2.1. Inducción de hormesis a través de inductores de origen biótico en plantas. Fuente. Vargas-hernandez *et. al.*, (2017).

Bettini y colaboradores (2016), determinaron que la inserción del gen rolB de *Agrobacterium rhizogenes* afecta el desarrollo, balance hormonal y sistema inmune en plantas de jitomate (*Solanum lycopersicum*) y sus resultados apuntan que el gen rolB mejora la fotosíntesis del cultivo. Finalmente, podemos decir que cuando una planta siente estrés (incluso por elicitores) canaliza sus energías más hacia defensa y disminuye la producción de biomasa, dejando la energía para reproducción prácticamente intacta debido a que esta se usa para perpetuar la especie (Cardenas-Manríquez *et al.*, 2016).

Existe evidencia donde los bioestimulantes y los compuestos de control biológico de origen biótico (elicitores) pueden inducir los fenómenos de hormesis en las plantas. El manejo de hormonas por estrés benéfico (eustrés) podría ser una

herramienta poderosa para mejorar la calidad nutracéutica de los alimentos en los cultivos. En este contexto, las respuestas adaptativas inducidas al hablar de señales de estrés entre especies (plantas y mamíferos) pueden ser una herramienta poderosa para mejorar la salud humana (Vargas-hernandez *et al.*, 2017).

2.10 Aplicación de elicitores en la agricultura.

La elicitación es un conjunto de técnicas en las que se somete las células a factores externos, induciendo mecanismos de defensa que en ocasiones incrementan la síntesis de metabolitos específicos. Dichos factores son llamados elicitores y se clasifican de acuerdo a su naturaleza, en bióticos (quitosano, metiljasmonato, alginato, extractos fúngicos) (Dong *et al.*, 2002; Conceicao *et al.*, 2006; Ignatov *et al.*, 1999; Wang *et al.*, 2002) y abióticos (metales pesados, estrés térmico, estrés osmótico) (Yu *et al.*, 2005; Wu *et al.*, 2001) o de acuerdo a la interacción planta-elicitor, en generales (metiljasmonato, ácido salicílico), si desencadenan una respuesta de defensa en cualquier planta, y específicos (extractos fúngicos), cuando sólo actúan sobre una especie en particular (Vasconsuelo *et al.*, 2007).

Se presentan dos aspectos básicos de la aplicación de elicitores sobre cultivos, el primero es presentar cómo los elicitores inducen la producción de metabolitos secundarios en los cultivos y el segundo aspecto es mostrar cómo estas aplicaciones afectan directamente la fotosíntesis de los cultivos.

Dentro del primer aspecto se puede decir que un elicitor es un factor modificador del metabolismo secundario de las plantas, el cual precisa ser reconocido en la planta por un receptor (proteína), que activa la expresión de genes de defensa que conducen a una serie de eventos intracelulares con el propósito de activar y mejorar la respuesta inmune primaria de la planta, generación de fitoalexinas y en ambos casos, el reconocimiento molecular es necesario para iniciar la vía de señalización (Xiaochuang *et al.*, 2017). Estos elicitores pueden ser bióticos o abióticos que desencadenan una serie de mecanismos de defensa que dan como

resultado una resistencia sistémica adquirida más allá del sitio de infección (Dodds *et al.*, 2010). Por otro lado, se dice que las sustancias químicas (metabolitos especializados) producidas por las plantas al encenderse su sistema inmune, en respuesta a una elicitación, en su mayoría presentan propiedades de actividad biológica tales como: antioxidantes, antimutagenicos, antiinflamatorios, entre otros, lo que los convierte en compuestos con actividad nutracéutica (El-Hadrami *et al.*, 2010, García-Mier *et al.*, 2013).

Tucuch-Haas y colaboradores (2017), evaluaron el efecto de ácido salicílico de manera foliar (0.1µm y 1 µm) en plántulas de maíz de la variedad *Xmejen-nal* (*Naltel x Tuxpeño*) donde se encontró que este compuesto favorece en el rendimiento y producción de granos de maíz.

Rodríguez-Larramendi y colaboradores (2017), evaluaron el efecto de concentraciones y tiempos de imbibición de las semillas en Ácido Salicílico sobre la germinación y el crecimiento inicial de plántulas de frijol (*Phaseolus vulgaris L. var. 'Negro'*). Los tratamientos consistieron en cinco concentraciones de Ácido Salicílico (0, 0.01, 0.025, 0.05 y 0.1 mM) y tiempos de imbibición de 1, 2, 3 y 4 horas donde encontraron que el tiempo de imbibición de las semillas determinó el efecto del Ácido Salicílico, probablemente como resultado de un proceso acumulativo del Ácido Salicílico que provocó un desbalance hormonal inhibitorio de la división celular.

Salcedo-Morales y colaboradores (2017), identificaron y caracterizaron raíces y haustorios de *Castilleja tenuiflora Benth* con compuestos formadores de haustorios donde los mejores resultados se presentaron con los tratamientos donde se agregó catequina pero es posible que en este caso los brotes de *C. tenuiflora* hayan priorizado el activar su sistema de protección antioxidante para reducir los niveles de H₂O₂ y esto no permitió su participación en la rizogénesis.

Blancka y colaboradores (2017), analizaron las principales vías de señalización de ácido salicílico, ácido jasmónico y etileno y genes involucrados durante la interacción *Bacillus*-planta-virus; y se aportan conocimientos sobre los

efectos de *Bacillus* en la reducción de la expresión de síntomas ocasionados por enfermedades de origen viral y las posibilidades de poder ser incluido en un programa de manejo sostenible de hortalizas.

Segundo aspecto. Estos inductores generan cambios no solo a nivel genético sino también a nivel fisiológico teniendo cambios significativos sobre el crecimiento y desarrollo vegetal, fotosíntesis, transpiración, intercambio iónico y transporte de electrones, así como cambios específicos en la anatomía de las plantas, hojas y en la estructura del cloroplasto (Zahoor *et al.*, 2017). Se sabe también que además de modificar la fotosíntesis, como consecuencia de ello mejora el flujo de foto asimilados. Dentro del metabolismo primario de las plantas, la fotosíntesis es un proceso de suma importancia porque convierte la energía lumínica en energía química que es aprovechada para su crecimiento y desarrollo; división, elongación, floración y fructificación (Krauß, 2003). Algunos investigadores han encontrado que los elicitores (bióticos y abióticos) mejoran la fotosíntesis, por ejemplo: Nazar y colaboradores (2015) encontraron que la aplicación de ácido salicílico, de forma foliar, en plantas de mostaza produce una mejora en la fotosíntesis y el crecimiento de plantas de mostaza sometidas a estrés hídrico Zahoor y colaboradores (2017) determinaron que la aplicación de potasio, como fertilizante, ayuda a soportar sequía e incrementa la actividad fotosintética y la asimilación de carbohidratos en un cultivo de algodón. Concluyendo que un manejo adecuado del potasio tiene el potencial de minimizar el impacto de las sequías sobre el cultivo del algodón.

Zahoor y colaboradores (2017), encontraron que la aplicación de Potasio disminuyó la fotosíntesis, la actividad de Rubisco y la acumulación y partición de biomasa. Los efectos positivos de la aplicación de potasio aumentaron a medida que aumentaron las tasas de potasio.

Bernardo Valeria y colaboradores (2017), encontraron que la inoculación con hongos formadores de micorrizas arbusculares aumentó la tolerancia de las plantas de pimiento a altas concentraciones de Cu en el suelo y que la aspersion de

Ácido salicílico en bajas concentraciones puede inducir mecanismos de tolerancia al estrés provocado por metales pesados.

2.11 Fotosíntesis.

De acuerdo a Benavides (2012) se define fotosíntesis como un proceso físico-químico por el cual las plantas, las algas y las bacterias fotosintéticas utilizan la energía de la luz solar para sintetizar compuestos orgánicos. En plantas, algas y en algunos tipos de bacterias fotosintéticas el proceso conlleva la liberación de oxígeno molecular y la utilización de dióxido de carbono atmosférico para la síntesis de compuestos orgánicos. A este proceso se le denomina fotosíntesis oxigénica.

Existen tres tipos de rutas metabólicas para las plantas donde la ruta metabólica C3 se encuentra en los organismos fotosintéticos como las cianobacterias, algas verdes y en la mayoría de las plantas vasculares. Las vías metabólicas C4 y CAM se encuentran solo en plantas vasculares. Las vías C4 y CAM involucran mecanismos especializados para la concentración y transporte del CO₂ a los sitios de fijación por RUBISCO (vía C3), pagando un precio extra en términos de ATP por unidad de CO₂ fijado, sin presentar ninguna modalidad o mejora bioquímica en términos de la eficiencia de RUBISCO sobre la vía C3. De las especies estudiadas hasta el momento aproximadamente el 89% son C3, el 10% son CAM y el restante 1% son C4; adicionalmente se conocen unas cuantas especies que son intermedias C3-C4 (Benavides, 2012).

A las plantas C3 se les llama así porque el bióxido de carbono primero se incorpora en un compuesto de carbono-3 y mantiene las estomas abiertos durante el día, aquí la fotosíntesis se lleva a cabo a través de la hoja, siendo el tomate una de las especies típicas de mayor importancia económica dentro de este tipo de plantas (Leegood, 1993).

2.12 Medición de fotosíntesis del follaje de las plantas.

La medición de la fotosíntesis del follaje de las plantas, es decir, de una o varias plantas completas, es de gran utilidad para correlacionarla con los rendimientos de los cultivos. Sin embargo, es una técnica que es menos fácil de realizar que las mediciones de fotosíntesis en una sola hoja; por lo que a lo largo de los años se ha estado mejorando para que cada vez sea una técnica más rápida y fácil de realizar por su importancia para el entendimiento de la fotosíntesis del follaje y la utilidad que puede tener para mejorar los rendimientos de los cultivos (Song *et al.*, 2016). El principio de funcionamiento de esta técnica consiste en un sistema cerrado en cuanto a intercambio de gases entre el interior y exterior de la cámara y que además permite el paso de luz por sus paredes. Esta técnica fue descrita primeramente por (Lange, 1962); posteriormente desarrollada y descrita detalladamente con toda la información técnica por (Reicosky, 1990). Actualmente se siguen haciendo modificaciones al diseño para mejorar la practicidad y rapidez en su uso como la cámara propuesta por (Song, 2016).

2.13 El cultivo del tomate.

El tomate (*Solanum lycopersicum*) es un cultivo alimentario de adopción reciente que se ha popularizado fundamentalmente durante el siglo XX. Su origen y las plantas relacionadas con él, tienen su centro de origen en Sudamérica, aunque la domesticación y cultivo tuvo lugar en las primeras civilizaciones de México. El nombre tomate deriva de la lengua náhuatl de México. La significativa diversidad contenida en el género *Lycopersicon* ha sido revisada recientemente para potenciar la mejora genética del tomate cultivado (Jones *et al.*, 2001).

El fruto del tomate es nutrimentalmente atractivo para el consumo humano, debido a que es una fuente de vitaminas A y C, antioxidantes, compuestos bioactivos y otros nutrientes. Su versatilidad para consumo en fresco o en conserva y su adaptabilidad han jugado un papel fundamental en su rápida y extensa

utilización, por lo que se ha convertido en un cultivo que contribuye al bienestar y la nutrición de la humanidad (Jones *et al.*, 2001).

2.14 Requerimientos del cultivo.

La productividad del cultivo de tomate se puede limitar principalmente por la cantidad de luz (radiación solar), temperatura, nutrientes y abastecimiento de agua. Por lo que a continuación se describen los principales factores que influyen en la productividad del tomate. El cultivo de tomate debe recibir diariamente un mínimo de 8 a 16 horas de luz. El óptimo térmico para el desarrollo del tomate durante el día es de 23-25°C y de 15-17°C durante la noche. Las temperaturas por debajo de 8°C y por encima de 30°C, alteran el desarrollo del tomate y suelen provocar un deficiente fructificación. A 0°C por varios minutos se hiela la planta. Altas temperaturas por encima de los 30°C durante periodos largos agobian las plantas y ocasionan desórdenes fisiológicos en el fruto. La humedad relativa óptima oscila entre un 60% y un 80%. Humedades relativas muy elevadas favorecen el desarrollo de enfermedades aéreas y el agrietamiento del fruto y dificultan la fecundación. También una humedad relativa baja dificulta la fijación del polen al estigma de la flor. La aportación de CO₂ permite compensar el consumo de las plantas y garantiza el mantenimiento de una concentración superior a la media en la atmósfera (alrededor de 350 ppm), así la fotosíntesis se estimula y se acelera el crecimiento de las plantas (Castellanos, 2009).

III. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.1 Hipótesis.

Los elicitores al ser aplicados en plantas, afectan la fotosíntesis causando cambios detectables a través de medios convencionales de medición de CO₂.

3.2 Objetivo general.

Estudiar el efecto del peróxido de hidrógeno y ácido salicílico como elicitores sobre la fotosíntesis del cultivo de jitomate.

3.3 Objetivos específicos.

Determinar curvas de fotosíntesis en cultivo de jitomate elicitado con peróxido de hidrógeno y ácido salicílico en aplicaciones foliares.

Determinar curvas de fotosíntesis en cultivo de jitomate elicitado con peróxido de hidrógeno y ácido salicílico en aplicaciones radiculares.

Precisar la incidencia de la concentración de Dióxido de Carbono en el proceso de transformación de energía lumínica en química.

IV. METODOLOGIA

4.1 Ubicación del área de estudio.

El experimento se llevó a cabo en la Universidad Autónoma de Querétaro, en el Campus Amazcala (Figura 4.1) de la Facultad de Ingeniería, en la comunidad de Amazcala, municipio El Marqués, Querétaro, México.

El clima del sitio es semiseco de acuerdo con el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI, 2009). Su ubicación geográfica es: latitud $20^{\circ}42'20.35''N$, longitud $100^{\circ}15'34.92''O$, altitud: 1920 msnm.



Figura 4.1. Ubicación geográfica del sitio en donde se llevó a cabo la investigación.

El experimento se llevó a cabo en un invernadero de plástico de doble capilla con una superficie de 3 m x 6 m (18m²), tal como se muestra en la Figura 4.2.



Figura 4.2. Fotografía de invernadero donde se llevó a cabo el experimento.

4.2 Materia vegetal.

Para esta investigación se tomó como cultivo experimental el jitomate (*Solanum lycopersicum*). Se utilizó la variedad comercial Torreón F1 como objeto de estudio para la absorción de CO₂, esta variedad es de crecimiento semi-determinado con muy buen desempeño en producción en invernaderos.

Se germinaron las semillas en sustrato a base de peat-moss con nombre comercial de “Sun-Shine 3”; después, se trasplantó a los 82 días en bolsas de polietileno de 40 x 40 cm. El cultivo se desarrolló con un sistema de riego por goteo

programado cada hora, durante un minuto utilizando bolsas con piedra volcánica (tezontle) como sustrato con tamaños no mayores a 5 mm en un volumen promedio de 14 litros.

El cultivo se formó a un tallo y se hicieron las podas de formación de acuerdo al sistema holandés que implica conducir la planta por rafia, dejar sólo tres hojas entre racimos y la eliminación de brotes axilares (Figura 4.3).



Figura 4.3. Fotografía del cultivo utilizado para realizar el experimento.

Se utilizó un sistema de riego por goteo con un sistema automatizado para dispensar durante dos minutos, cinco veces al día. El cálculo de los aportes de fertilizantes se efectuó teniendo en cuenta la concentración de H_2SO_4 , $Ca(NO_3)_2$, K_2SO_4 , $MgSO_4$, KPO_4 , $Mg(NO_3)_2$, KCl en el agua de riego dentro de dos tinacos sumando un volumen de 5,000L.

Tabla 4.1. Solución nutritiva durante el crecimiento de la planta.

Ácido Sulfúrico	250 ml
Nitrato de Calcio	2950gr
Sulfato de potasio	1000gr
Sulfato de Magnesio	800gr
Fosfato de Potasio	820gr
Nitrato de Magnesio	650gr
Cloruro de Potasio	100gr

El volumen de agua en que se diluyó la nutrición fue de 5,000 litros.

4.3 Cámara de monitoreo de CO₂.

Para determinar la cantidad de CO₂ absorbida por una planta completa de tomate, se utilizó una cámara (C1) de monitoreo de CO₂ basada en el diseño de Song (2016), la cual consiste en un prisma cuadrangular cuyos lados están hechos con policarbonato, a excepción de la base, a fin de que permita el paso de luz del exterior al interior; las medidas son de 60 cm de lado y 120 cm de alto, todos los bordes se sellaron con silicón para evitar el intercambio de gases entre el interior y el exterior. La base de la cámara, en donde se colocaron las plantas es desmontable para poder introducir las plantas, siendo esta pieza de lámina de metal galvanizado de 3 milímetros, suficiente para que soportar el peso de las plantas, además, contiene empaques termomagnéticos en las orillas de las paredes de policarbonato que hacen contacto con la base de metal, ésto para garantizar el cierre hermético al momento de cerrar la cámara, se puede apreciar el diseño y los componentes de la cámara de monitoreo en la Figura 4.5. Los experimentos se llevaron a cabo por medio de una cámara climática externa (C2) de dimensiones aproximadas de 3x3x2.5m (largo, ancho y altura) y forrado con material térmico (Figura 4.4).



Figura 4.4. Fotografía del interior de la cámara climática externa (C2).

La disposición de las cámaras C1 y C2 permite llevar a cabo la medición por cerca de 20 minutos antes de que el aire se sature con humedad (Datos propios no publicados). Es importante resaltar que esta forma de medición de la fotosíntesis tiene dos ventajas con respecto a los métodos actuales, primero; se mide la fotosíntesis de toda la planta y no solo el de unas hojas como lo hacen los equipos tipo IRGA (Infrared Gas Analyzer) y, segundo; el tiempo de medición es de, al menos, 10 veces más comparado con lo que se puede lograr usando las cámaras (CAPTS) a cielo abierto, ya que la temperatura al interior de la cámara se incrementa rápidamente debido a la radiación solar, limitando el tiempo de medición de dos a tres minutos (Song, 2016).

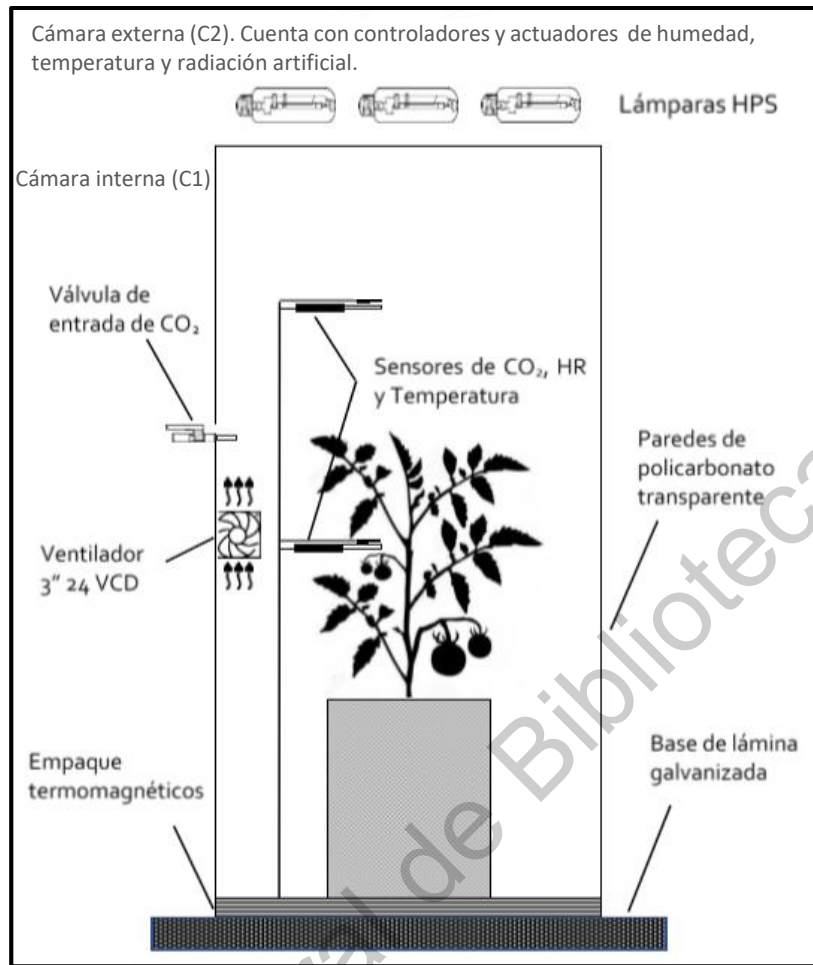


Figura 4.5. Disposición experimental para la medición de fotosíntesis. Fuente: Arellano (2017).

A la cámara de monitoreo se le instalaron 2 sensores infrarrojos de CO₂ marca Almemo, 2 sensores de temperatura/humedad-relativa/presión-atmosférica Almemo, arrojando datos e información a un Instrumento Universal de medición profesional Almemo y 1 ventilador de 3" de diámetro para homogeneizar el aire y sus contenidos dentro de la cámara, las especificaciones se muestran a continuación:

Instrumento Universal de medición profesional.

Marca: Ahlborn Modelo: Almemo 2590-4AS. Características: 2.5/ 10 Mediciones por segundo. Alimentación del sensor 6/9/12 V, corriente máxima 0.5. Enchufes

para módulos de señales de entrada. Display gráfico 128 x 64 pixels, 8 columnas, iluminación LED (Figura 4.6).



Figura 4.6. Aparato portátil de medición de temperatura, presión, humedad relativa.

Sensor de CO₂: Marca Almemo. Modelo FYAD00CO2. Rango de medición de 0 a 10,000 ppm. Exactitud de $\pm 5\%$ del valor medido. Condiciones ambientales operativas de temperatura de 0 a 95% de humedad relativa y de -40 a 60 °C de temperatura (Figura 4.7).



Figura 4.7. Sensor de CO₂: Marca Almemo.

Sensor de Temperatura / Humedad Relativa / Presión Atmosférica: Marca Almemo. Modelo FHAD46-Cx. Rango de medición de 0 a 98% de Humedad Relativa, de -20 a 80 °C y de 700 a 1,100 mbar. Exactitud de $\pm 2\%$ para Humedad Relativa, ± 0.2 °C para Temperatura y ± 2.5 mbar para Presión Atmosférica. La

humedad absoluta se calcula automáticamente con los datos de Temperatura, Humedad Relativa y Presión Atmosférica y es reportada en g/m³ (Figura 4.8).



Figura 4.8. Sensor de Temperatura / Humedad Relativa / Presión Atmosférica:
Marca Almemo.

4.4 Pruebas de funcionamiento.

Para comprobar que la cámara estaba herméticamente sellada en cuanto a intercambio de gases, se inyectó CO₂ al interior de la cámara empezando con un promedio de ambos sensores en 740 ppm de CO₂ aumentando hasta 741 ppm y se monitoreó su concentración por 15 minutos.

4.5 Modificación de condiciones ambientales.

Se colocaron 3 lámparas de vapor de sodio de alta presión al exterior de la cámara, cada una de distinta potencia, a fin de dar diferentes variaciones de luz dentro de la cámara, las lámparas fueron de 1000 W, 400 W y 250 W. El CO₂ se mantuvo de acuerdo al ambiente presente. La temperatura y la humedad relativa se controlaron con la ayuda de equipos eléctricos de enfriamiento, calefacción, desecación y humidificación (ver Figura 4.9).

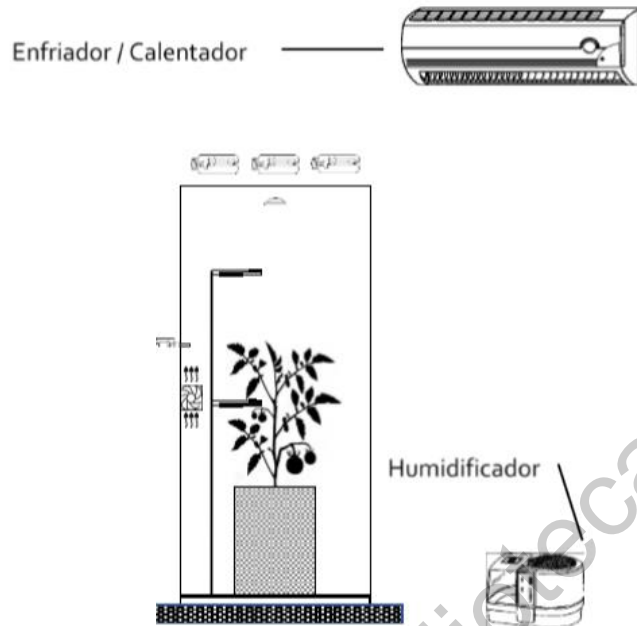


Figura 4.9. Esquema de la distribución de los equipos de humidificación y calefacción/enfriador Fuente: Arellano (2017).

4.6 Diseño experimental.

Se llevaron a cabo las primeras mediciones a las plantas de tomate cuando éstas tenían una altura promedio de 37cm y área foliar de entre 23 y 30 hojas en su tamaño máximo, a los 50 y 51 días después del trasplante para ácido salicílico de manera foliar y radicular, respectivamente; después se hicieron otras mediciones al iniciar la etapa de fructificación, a los 84 y 86 días después del trasplante.

Como elicitores se aplicaron: ácido salicílico en concentraciones de 0.1, 0.5 y 1.0 μM para la vía aérea y para la vía radicular y peróxido de hidrógeno en concentraciones de 2, 20 y 200 mM para la vía aérea y para la vía radicular. Ambos con su control (sin aplicación de elicitador) y cada uno durante 15min, tiempo adecuado para evitar la saturación de humedad dentro de la cámara.

El total de tratamientos fueron 16, 6 para la primera etapa y 6 para la etapa de fructificación, y el control de cada uno, tales como se muestran en la Tabla 4.1.

Tabla 4.2. Tratamientos en la etapa de floración y fructificación, la humedad relativa inicial para todos los tratamientos fue de 40%, aproximadamente.

Tratamiento	A.S. (μ M)	H ₂ O ₂ (mM)	Aplicación	Cantidad
T1	0.1		Foliar	Hasta humedecer bien la superficie
T2	0.5			
T3	1.0			
T4	0.1		Radicular	300ml en el sustrato
T5	0.5			
T6	1.0			
T7		2	Foliar	Hasta humedecer bien la superficie
T8		20		
T9		200		
T10		2	Radicular	300ml en el sustrato
T11		20		
T12		200		
Control			Sin elicitar	

El volumen de las bolsas de sustrato fue de 14 litros.

Es importante señalar que todos los experimentos se hicieron por triplicado, es decir, tres plantas para cada elicitor con su respectivo control (sin aplicación del elicitor) con una temperatura constante de 20°C y una concentración de CO₂ sin controlar (600 ppm- 800 ppm).

4.7 Monitoreo del consumo de CO₂.

Las mediciones de consumo de CO₂ se hicieron entre 08:00 a.m. y 03:00 p.m. Una vez establecidas las condiciones de temperatura, humedad relativa, concentración de CO₂ y radiación PAR, mediante los equipos ya mencionados, se introdujeron tres a tres las plantas de tomate dentro de la cámara C2 para su aclimatación; inmediatamente después, la cámara C1 se cerró herméticamente y se empezó con el registro de datos de temperatura, humedad relativa y concentración de CO₂ durante un tiempo de 900 segundos equivalentes a 900 datos registrados, debido a que cada medición se realizó cada 1.0 segundos que es el intervalo menor que se pudo programar en el equipo. Después del tiempo transcurrido, se detuvo el registro de datos y se abrió la cámara de monitoreo para volver a establecer las

condiciones iniciales deseadas para el experimento siguiente. En el tiempo transcurrido, la concentración de CO_2 y H_2O dentro de la cámara se modificaron por efecto de la respiración, fotosíntesis y transpiración que la planta realiza de manera natural; por lo que la diferencia de concentraciones de CO_2 entre el inicio y el fin de las mediciones, es la cantidad de este nutriente que la planta consume para esas condiciones ambientales dadas, de la misma manera sucedió con la concentración de H_2O , que se incrementó.

4.8 Medición de superficie foliar.

Después del monitoreo fotosintético, a cada planta se le midió la superficie foliar mediante el análisis con fotografías digitales (Rico-García, 2009), que es una prueba destructiva.

En breve, la determinación de la superficie foliar con fotografías digitales consiste en tomar fotografías del total de hojas de la planta sobre una superficie blanca (Figura 4.10), de primera instancia se toma una fotografía de un objeto con un área conocida, posteriormente las fotografías se analizan en el software MatLab (Figura 4.11), este software cuenta los píxeles que corresponden a las hojas de las plantas en las fotografías de las hojas, también cuenta los píxeles correspondientes al objeto de área conocida; finalmente determina el área de las hojas en relación al área conocida del objeto.

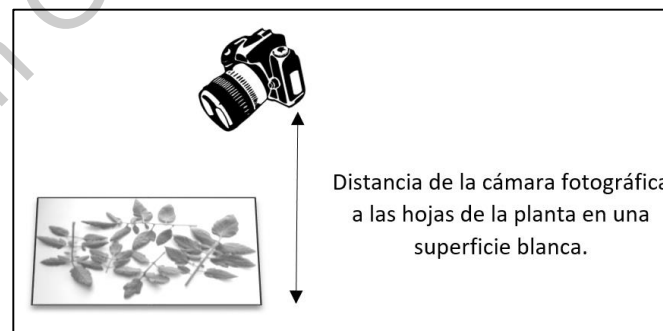


Figura. 4.10. Esquema de la toma de fotografías digitales para medir superficie total de la planta.



Figura. 4.11. Análisis de superficie foliar mediante fotografías digitales.

4.9 Determinación de consumo de CO₂ y fotosíntesis.

Los valores para determinar el consumo en CO₂ y Fotosíntesis de las plantas a medir se realizó por medio de un documento de Microsoft Excel, una página para cada uno de los elicitores (H₂O₂ y Ácido Salicílico de manera foliar y radicular cada uno). Dentro de las filas de encabezado se encuentran: Consumo total de CO₂ por planta (ppm), área foliar (m²), consumo total de CO₂ entre el volumen de la caja (mg CO₂), fotosíntesis (μmol CO₂/m²s).

4.10 Segundo experimento.

En un segundo experimento se fijó una temperatura ambiente de 24°C y una atmósfera enriquecida con CO₂ a 1200 ppm, tratándose de aplicar los tratamientos a plantas con edad de tres meses después de la siembra, de igual porte, es decir, con área foliar similar, esto último sólo fue una apreciación cualitativa. Teniendo en cuenta durante el experimento, las temperaturas de hoja y sustrato también fueron medidas, la temperatura foliar se midió con una cámara infrarroja marca Fluke y la temperatura del sustrato se midió con un termómetro de mercurio (Tabla 4.2.).

Tabla 4.3. Tratamientos en la etapa de crecimiento.

Tratamiento	A.S. (μM)	T° Hoja (°C)	T° Sustrato (°C)	Aplicación	Cantidad
T1	0.1	23	20	Foliar	Hasta
T2	0.5	23.5	20		humedecer
T3	1.0	22.9	20.5		bien la
T4	0.1	22.5	20		superficie
T5	0.5	23	20		
T6	1.0	23	22		
T7	0.1	24..2	22		
T8	0.5	23.1	22		
T9	1.0	22.9	21		
Control			Sin elicitar		

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Humedad relativa respecto al tiempo dentro de la cámara de monitoreo.

Se obtuvo la curva de humedad relativa respecto al tiempo (Figura 5.1). Datos que reflejan la transpiración de las plantas, fenómeno directamente ligado a la fotosíntesis.

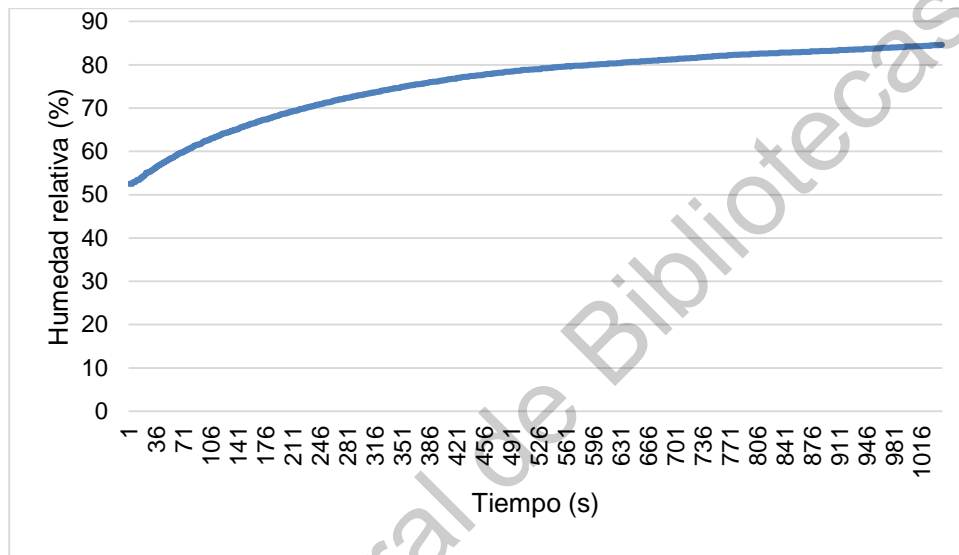
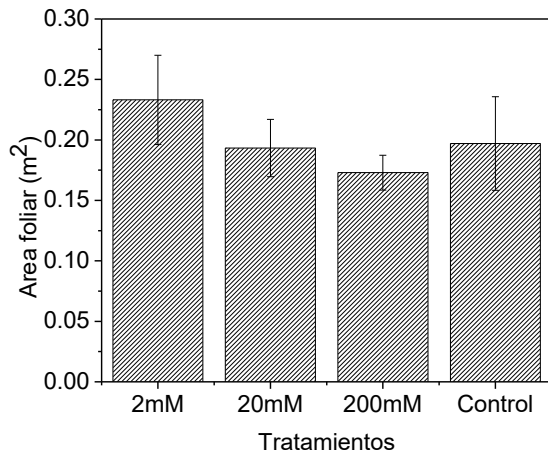


Figura 5.1. Comportamiento de la humedad relativa respecto al tiempo dentro de la cámara de monitoreo.

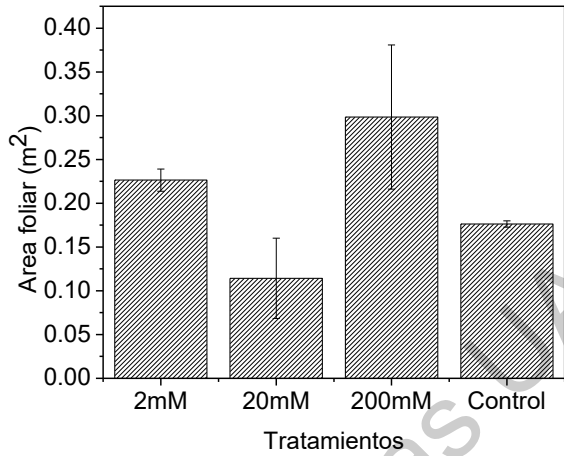
El comportamiento de la humedad dentro de la cámara de monitoreo resultó ser cuadrática, incrementó la concentración de vapor de agua/ transpiración.

5.2 Promedio de superficie foliar.

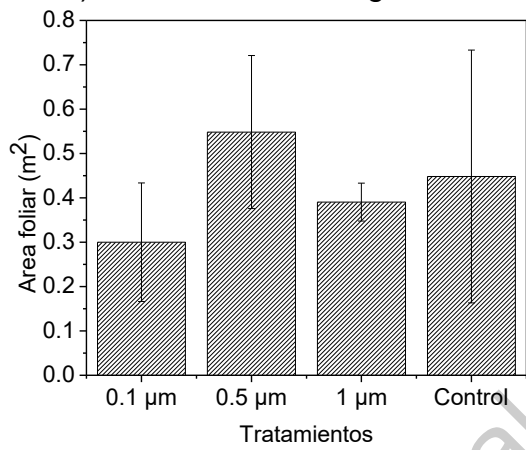
Los primeros resultados obtenidos fueron las áreas foliares de los distintos tratamientos, variando desde 0.10 hasta 0.6 m² de área foliar (Figura 5.2).



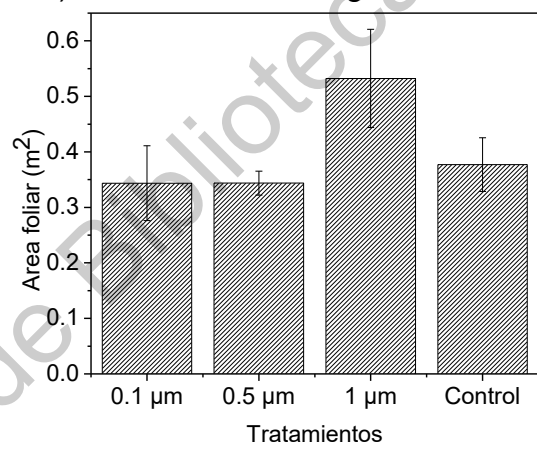
a) Peróxido de Hidrógeno Foliar



b) Peróxido de Hidrógeno Radicular



c) Ácido Salicílico Foliar



d) Ácido Salicílico Radicular

Figura 5.2. Promedio de superficie foliar en metros cuadrados (m²) para cada uno de los elicitores en sus diferentes concentraciones.

5.3 Actividad fotosintética en cultivo de tomate elicitado con peróxido de hidrógeno y ácido salicílico en aplicaciones foliares.

Los resultados del consumo de CO₂ y fotosíntesis en los distintos tratamientos se pueden ver en la Figura 5.3- Figura 5.6. Nótese que no se aprecia una tendencia definida, es decir, que a mayor concentración de elicitar haya más o menos fotosíntesis, los patrones no se repiten, sin embargo parece ser que las concentraciones bajas de los elicitores, producen un efecto de eustrés mientras que a altas concentraciones producen distrés (Figura 5.3).

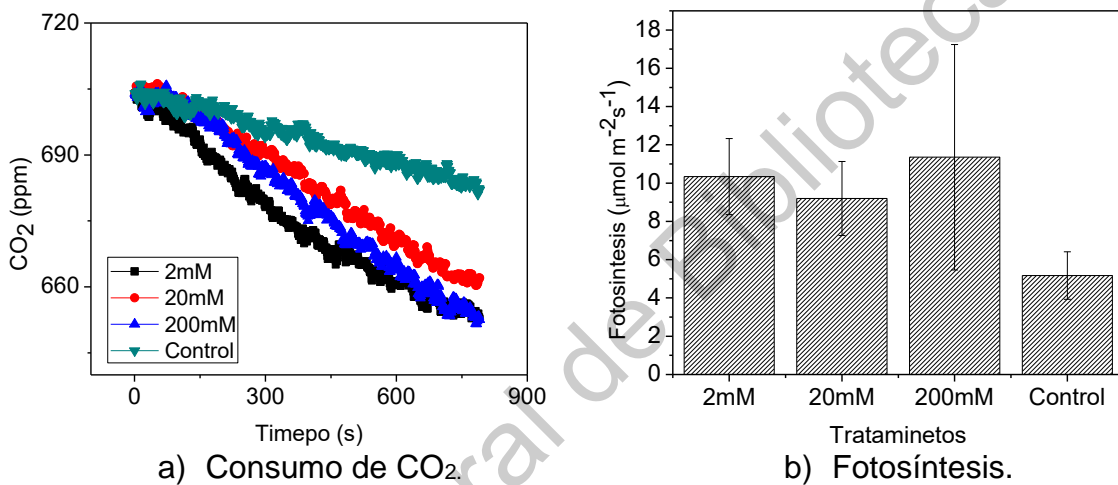


Figura 5.3. Aplicación Foliar de Peróxido de Hidrógeno.

El método utilizado nos permite ver que la fotosíntesis se ve afectada positiva o negativamente y no logramos ver una tendencia clara (Figura 5.4). Sin embargo podemos decir, de acuerdo con nuestros resultados, que a bajas dosis de elicitación se tiene un efecto de eustrés y a altas dosis de elicitación se tiene un distrés causado a la planta. Es importante hacer notar que este método nos permite de manera casi instantánea, poder determinar si a la planta se le está causando un estrés negativo o positivo en lugar de esperar a ver los resultados de largo plazo, como reducción de crecimiento, productividad, tamaño. El potencial de medir la fotosíntesis como indicativo de eustrés y distrés más grande, sin embargo se

requiere desarrollar un equipo que sea capaz de medir fotosíntesis en campo, sin ser invasiva para la planta.

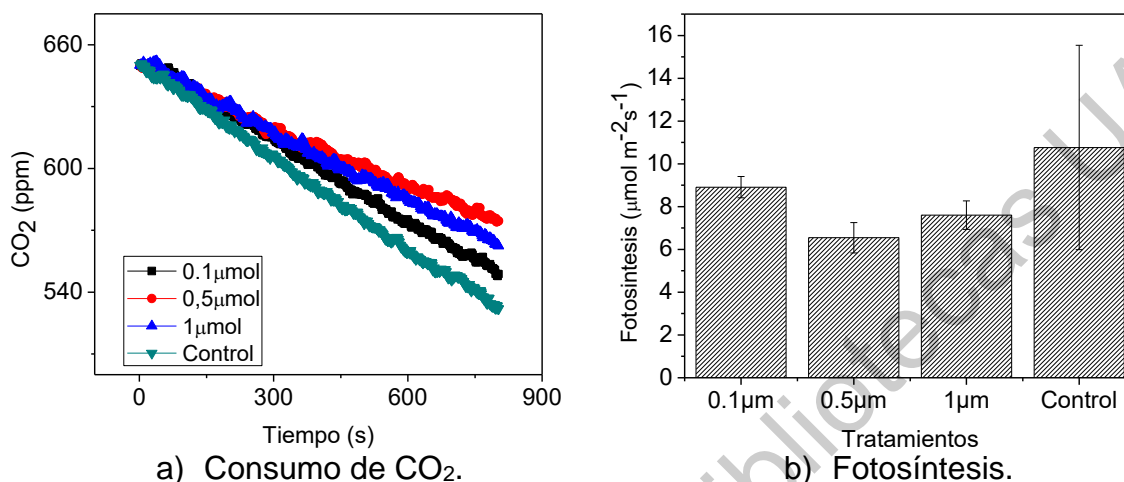


Figura 5.4. Aplicación Foliar de Ácido Salicílico.

5.4 Actividad fotosintética en cultivo de tomate elicitado con peróxido de hidrógeno y ácido salicílico en aplicaciones radiculares.

Los resultados del primer experimento mostraron gran variación entre ellos, esto se pudo deber a las diferencias de área foliar del cultivo además de que no se controló la concentración de CO₂ inicial en las pruebas como se muestra en la Figura 5.4.

Es importante hacer notar que la metodología empleada, nos permitió medir la fotosíntesis de toda una planta y no sólo de una parte de ella, es decir, la tasa fotosintética del follaje completo y de acuerdo a (Song, 2016) esto puede ser de gran utilidad para estimar la productividad de un cultivo.

El comportamiento de la curva de concentración de CO₂ dentro de la cámara de monitoreo fue descendiente para todos los tratamientos, lo que nos indica que la tasa fotosintética durante el experimento se presentó, que de acuerdo

a (Sánchez, 2010) la fotosíntesis tiene como sustrato fundamental el CO₂ y como fuente de energía para realizar las reacciones de síntesis de los carbohidratos orgánicos a partir del CO₂ inorgánico.

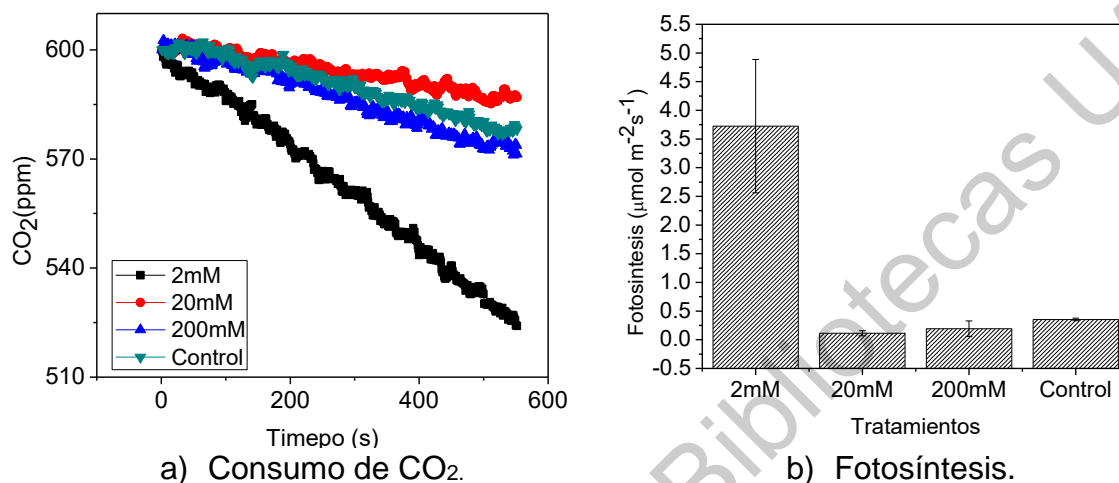


Figura 5.5. Aplicación Radicular de Peróxido de Hidrógeno.

En este trabajo se han presentado los datos de captación de CO₂ para poder comparar con el grado de fotosíntesis que realiza cada planta (Figura 5.6). Cuando el oxígeno/CO₂ es suministrado a concentraciones que están por debajo de los requerimientos del cultivo, tanto el crecimiento como la producción de metabolitos secundarios se ven disminuidos (Han *et al.*, 2003; Trung *et al.*, 2006, Honda *et al.*, 2002). El CO₂ por su parte se considera el principal producto gaseoso resultante/responsable del crecimiento, el cual puede actuar como nutriente esencial en cultivos fotomixotróficos o fotosintéticos (Han *et al.*, 2003).

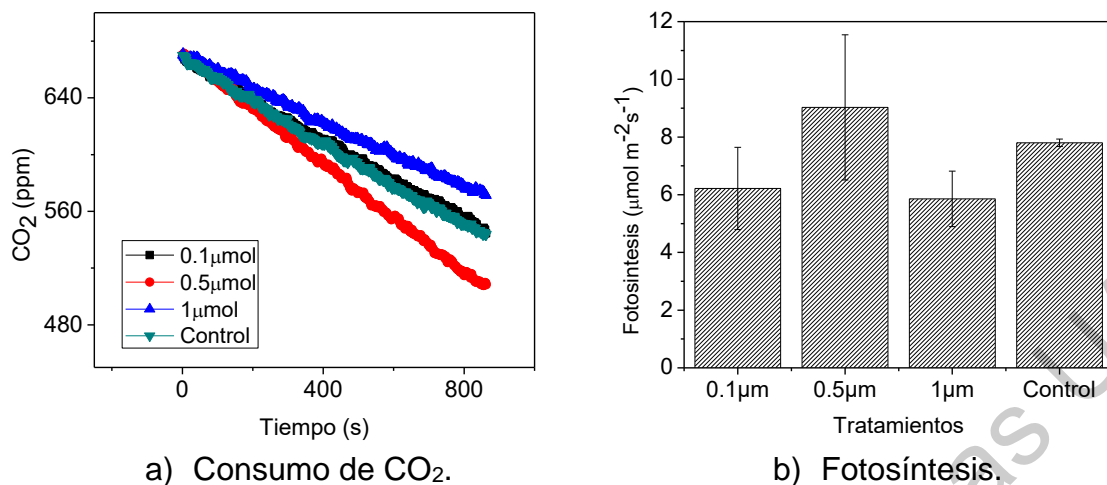


Figura 5.6. Aplicación Radicular de Ácido Salicílico.

5.5 Actividad fotosintética en cultivo de tomate elicitado con ácido salicílico aplicado foliarmente con atmósfera enriquecida (CO₂ a 1200 ppm).

El segundo experimento se realizó para poder subsanar los defectos de la primera ronda de experimentación, se trató de controlar la concentración inicial de CO₂, así como el área foliar. También se elevó la temperatura a 24°C para promover mayor actividad fisiológica en la planta y poder apreciar mejor los resultados. La temperatura del follaje se situó muy cerca de la temperatura de consigna que fue de 24°C, sin embargo la temperatura del sustrato se mantuvo en 20°C. En este experimento podemos corroborar que a bajas dosis de elicitación se tiene un efecto de eustrés y a altas dosis de elicitación se tiene un distrés causado a la planta (Figura 5.7).

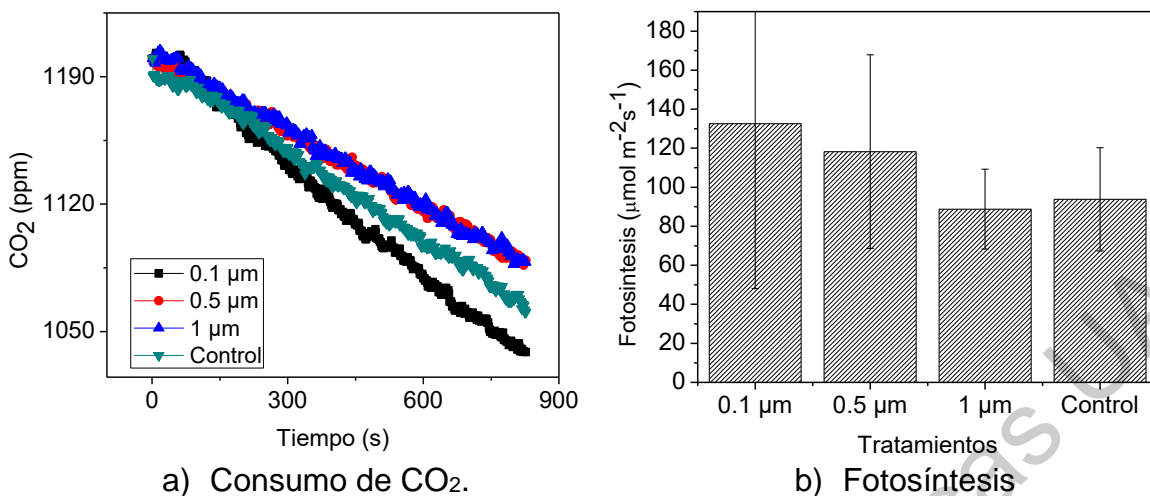


Figura 5.7. Aplicación Foliar de Ácido Salicílico (CO₂ a 1200 ppm).

La aplicación de elicitores para la producción controlada de metabolitos de interés particular “elicitación de precisión” se plantea como una estrategia para aumentar la producción agrícola, el estudio de estos procesos es muy baja, por lo que es necesario aplicar las metodologías de optimización descritas en el presente trabajo como una manera de incrementar la producción de metabolitos de interés. México, un país megadiverso, debe aprovechar la cantidad de material vegetal con que cuenta para el desarrollo de este tipo de metodologías, con el fin de obtener mayores rendimientos con diversas aplicaciones.

VI. CONCLUSIÓN

Nuestros resultados mostraron grande variabilidad, sin embargo nos permitieron establecer que efectivamente, la aplicación de elicitores en los cultivos, modifican la fotosíntesis del mismo, aumentando a dosis bajas y disminuyendo a dosis altas, esto permitió corroborar el comportamiento hormético o paso del eustrés al distrés. Aunque el comportamiento no fue siempre el mismo.

Es necesario continuar con esta investigación bajo condiciones de mayor control tanto en las variables fisiológicas como la de los equipos de medición para poder establecer condiciones mejores y obtener resultados más claros.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Xiaochuang, C., Chu, Z., Lianfeng, Z., Junhua, Z., Hussain, S., Lianghuan, W., & Qianyu, J. (2017). Plant Physiology and Biochemistry Glycine increases cold tolerance in rice via the regulation of N uptake , physiological characteristics , and photosynthesis. *Plant Physiology et Biochemistry*, 112, 251–260.

<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.01.008>

Dodds P.N., Rathjen J.P., (2010) Plant immunity: towards an integrated view of plant-pathogen interactions. *Nat Rev Genet* 11: 539:48.

El Hadrami, A., L.R. Adam, I. El Hadrami, F. Daayf, 2010. Chitosan in plant protection. *Marine Drugs* 8(4):968-987.

Zahoor, R., Dong, H., Abid, M., Zhao, W., Wang, Y., & Zhou, Z. (2017). Potassium fertilizer improves drought stress alleviation potential in cotton by enhancing photosynthesis and carbohydrate metabolism. *Environmental and Experimental Botany*. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.02.002>

Kraub, N. 2003. Mechanisms for photosystems I y II. *Current Opinion in Chemical Biology* 7: 540-550.

R. Nazar, S. Umar, N.A. Khan, O. Sareer. (2015). Salicylic acid supplementation improves photosynthesis and growth in mustard through changes in proline accumulation and ethylene formation under drought stress. *South African Journal of Botany* 98. 84–94.

Rizwan Zahoor, Haoran Dong, Muhammad Abid, Wenqing Zhao, Youhua Wang, Zhiguo Zhou. (2017). Potassium fertilizer improves drought stress alleviation potential in cotton by enhancing photosynthesis and carbohydrate metabolism. *Environmental and Experimental Botany*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.02.002>

Priscilla P. Bettini, Massimiliano Marvasi, Fabiola Fani, Luigi Lazzara, Elena Cosi, Lorenzo Melani, Maria Luisa Mauro. (2016) *Agrobacterium rhizogenes rolB* gene affects photosynthesis and chlorophyll content in transgenic tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants. *Journal of Plant Physiology* 204. 27–35.

G. Cardenas-Manríquez, I. Vega-Muñoz, A.L. Villagómez-Aranda, M.F. León-Galvan, A. Cruz-Hernandez, I. Torres-Pacheco, R.M Rangel-Cano, R.F. Rivera-Bustamante, R.G Guevara-Gonzalez. (2016). Proteomic and metabolomic profiles in transgenic tobacco (*N. tabacum xanthi nc*) to CchGLP from *Capsicum chinense* BG-3821 resistant to biotic and abiotic stresses. *Environmenatl and experimental Botany*, 130: 33-41.

Murchie, E.H., Pinto, M. & Horton, P., 2009. Agriculture and the new challenges for photosynthesis research. *New Phytologist*, 181(3), pp.532–552.

Jones, J. B., J. Pail, R. E. Stall, y T. A. Zitter. 2001. *Plagas y Enfermedades del Tomate*. APS. España. 74p.

Castellanos, J.Z., 2009. *Manual de producción de tomate en invernadero*. Hermosillo, Sonora. Intagri.

Castilla, N., 2005. *Invernaderos de plástico tecnología y manejo Ediciones*, España.

Baille, A., 1999. *Energy Cycle. Greenhouse ecosystems*. Stanhill, G., Enoch, H. Z. (Eds.) Elsevier., Netherlands. 266-285.

Lorenzo, P. 1997. Evaluación de la incorporación de sistemas de calefacción en la horticultura intensiva bajo cubierta de plástico en el sur del mediterraneo. In *Actas de horticultura*, pp. 371–378.

Song, Q. 2016. A new canopy photosynthesis and transpiration measurement system (CAPTS) for canopy gas exchange research. *Agricultural and Forest Meteorology*, 217, pp.101–107. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.agrformet.2015.11.020>.

Lange, O.L., 1962. Eine "Klapp-Küvette" zur CO₂-Gaswechselregistrierung an Blättern von Freiland-pflanzen mit dem URAS. *Ber. deut. bot. Ges.*, 75, pp.41– 50.

Reicosky, D.C., 1990. Canopy gas exchange in the field: Closed chambers. *Remote Sensing Reviews*, 5(1), pp.163–177. Available at: <http://dx.doi.org/10.1080/02757259009532127>.

Dong, H.D. and J.J. Zhong. 2002. Enhanced taxane productivity in bioreactor cultivation of *Taxus chinensis* cells by combining elicitation sucrose feeding and ethylene incorporation. *Enzyme and Microbial Technology* 31(1): 116-121.

Conceicao, L.F.R., F. Ferreres, R.M. Tavares and A.C.P. Dias. 2006. Induction of phenolic compounds in *Hypericum perforatum* L. cells by *Colletotrichum gloeosporioides* elicitation. *Phytochemistry* 67(2): 149-155.

Ignatov, A., G. Clark, S. Cline, M. Psenak, R. Krueger and C. Coscia. 1999. Elicitation of dihydrobenzophenanthridine oxidase in *Sanguinaria canadensis* cell cultures. *Phytochemistry* 43(6): 1141-1144.

Wang, Z. and J. Zhong. 2002. Combination of conditioned medium and elicitation enhances taxoid production in bioreactor cultures of *Taxus chinensis* cells. *Biochemical Engineering Journal* 12(2): 93–97.

Thanh, N., H. Murthy, K. Yu, E. Hahn and K. Paek. 2005. Methyl jasmonate elicitation enhanced synthesis of ginsenoside by cell suspension cultures of *Panax ginseng* in 5-l balloon type bubble bioreactors. *Applied Microbial and Biotechnology* 67(2): 197–201.

Zhao, Z., Y. Xu, Z. Qian, W. Tian, X. Qian and J.J. Zhong. 2004. Novel fluoro- and hydroxyl-containing jasmonate derivatives as highly efficient elicitors in suspension cultures of *Taxus chinensis*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 14(18): 4755–4758.

Wu, J., C. Wang, X. Mei. 2001. Stimulation of taxol production and excretion in *Taxus* spp cell cultures by rare earth chemical lanthanum. *Journal of Biotechnology* 85(1): 67-73.

Yu, K.W., H.N. Murthy, C.S. Jeong, E.J. Hahn and K.Y. Paek. 2005. Organic germanium stimulates the growth of ginseng adventitious roots and ginsenoside production. *Process Biochemistry* 40(9): 2959-2961.

Vasconsuelo, A. and R. Boland. 2007. Molecular aspects of the early stages of elicitation of secondary metabolites in plants. *Plant Science* 172(5):861-875.

Leegood, R.C. 1993. Carbon Dioxide Concentrating Mechanisms. In: P.J. Lea and R.C. Leegood (Eds.). *Plant Biochemistry and Molecular Biology*. John Wiley and Sons, Ltd. Chichester, U.K.

Agroalimentario, P., y T. Rojo. 2016. *Tomate Rojo 2016*.

Benavides, A. 2012. Fotosíntesis : Diferencias En Las Vías Metabólicas. *Carbon N. Y.* 2–5.

Krauß, N. 2003. Mechanisms for photosystems I and II. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 7:540–550. doi:10.1016/j.cbpa.2003.08.011.

Sánchez, P. 2010. Tema 3. Respuesta fotosintética de la hoja de vida. Available from: <http://ocw.upm.es/produccion-vegetal/viticultura/contenidos/Fotosintesisvid.pdf>

Song, Q., H. Xiao, X. Xiao, y X. G. Zhu. 2016. A new canopy photosynthesis and transpiration measurement system (CAPTS) for canopy gas exchange research. *Agric. For. Meteorol.* 217:101–107. doi:10.1016/j.agrformet.2015.11.020. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.agrformet.2015.11.020>

Vargas-hernandez, M., I. Macias-bobadilla, R. G. Guevara-gonzalez, S. D. J. Romero-gomez, E. Rico-garcia, R. V Ocampo-velazquez, L. D. L. Alvarez-arquieta, y I. Torres-pacheco. 2017. Plant Hormesis Management with Biostimulants of Biotic Origin in Agriculture. 8:1–11. doi:10.3389/fpls.2017.01762.

Xiaochuang, C., Z. Chu, Z. Lianfeng, Z. Junhua, S. Hussain, W. Lianghuan, y J. Qianyu. 2017. Glycine increases cold tolerance in rice via the regulation of N uptake, physiological characteristics, and photosynthesis. *Plant Physiol. Biochem.* 112:251–260. doi:10.1016/j.plaphy.2017.01.008. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.01.008>

Zabala, M. A., M. Juliana, A. Velásquez, A. Maria, A. Cardona, J. Manuel, R. Flórez, y M. Vallejo. 2009. STRATEGIES FOR THE IMPROVEMENT OF SECONDARY METABOLITES PRODUCTION IN PLAN CELL. 62:4881–4895.

Zahoor, R., H. Dong, M. Abid, W. Zhao, Y. Wang, y Z. Zhou. 2017. Potassium fertilizer improves drought stress alleviation potential in cotton by enhancing photosynthesis and carbohydrate metabolism. *Environ. Exp. Bot.* 137:73–83. doi:10.1016/j.envexpbot.2017.02.002. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.02.002>

Sánchez, P. 2010. Tema 3. Respuesta fotosintética de la hoja de vida. Available from: <http://ocw.upm.es/produccion-vegetal/viticultura/contenidos/Fotosintesisvid.pdf>

Day, W. & Bailey, B.J. 1999. Physical principles of microclimate modification.

N. Castilla. 2007. Invernaderos de plástico. Madrid: Mundi- prensa 2da edición.

Calabrese, E. J. (2009). Hormesis: a conversation with a critic. *Environ. Health Perspect.* 117, 1339–1343. doi: 10.1289/ehp.0901002

Calabrese, E. J., Bachmann, K. A., Bailer, A. J., Bolger, P. M., Borak, J., Cai, L., et al. (2007). Biological stress response terminology: integrating the concepts of adaptive response and preconditioning stress within a hormetic dose-response framework. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 222, 122–128. doi: 10.1016/j.taap.2007.02.015

Mattson, M. P. (2008). Hormesis defined. *Ageing Res. Rev.* 7, 1–7. doi: 10.1016/j.arr.2007.08.007

Hideg, E., Jansen, M. A., and Strid, A. (2013). UV-B exposure, ROS, and stress: inseparable companions or loosely linked associates? *Trends Plant Sci.* 18, 107–115. doi: 10.1016/j.tplants.2012.09.003

Arellano J. C.. (2017). Efecto de las condiciones ambientales en la dinámica de absorción de CO₂ en tomate de invernadero. Universidad Autónoma de Querétaro, 1, 11-12.

Sánchez, S.M., T.J. Fernandez and P. Corchete. 2005. Yeast extract and methyl jasmonate-induced silymarin production in cell cultures of *Silybum marianum* (L.) Gaertn. *Journal of Biotechnology* 119(1): 60–69.

Zabala, M. A., M. Juliana, A. Velásquez, A. Maria, A. Cardona, J. Manuel, R. Flórez, y M. Vallejo. 2009. STRATEGIES FOR THE IMPROVEMENT OF SECONDARY METABOLITES PRODUCTION IN PLAN CELL. 62:4881–4895.

Vargas-hernandez, M., I. Macias-bobadilla, R. G. Guevara-gonzalez, S. D. J. Romero-gomez, E. Rico-garcia, R. V Ocampo-velazquez, L. D. L. Alvarez-arquieta, y I. Torres-pacheco. 2017. Plant Hormesis Management with Biostimulants of Biotic Origin in Agriculture. 8:1–11. doi:10.3389/fpls.2017.01762.

Jaramillo, J. 2009. The state of research in tomato in Colombia. *Acta Hort.* 821, 47-52.

Rico-garcía, E., 2009. Two new Methods for the Estimation of Leaf Area using Digital Photography Two new Methods for the Estimation of Leaf Area using Digital Photography. , (January 2009).

Martínez, P.F. 2001. Cultivo de tomate en invernadero frío. pp. 70-78. En: Memorias del curso Horticultura Protegida. 22 a 26 de octubre de 2001. Santa Cruz de la Sierra, Bolivia.

Ubaque, H.W., E.H. Fuentes y R. Lee. 2002. Manual de tomate bajo invernadero. Vol. 2. Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, Bogotá.

Casierra-Posada, F., M.C. Cardozo y J.F. Cárdenas Hernández. 2007. Análisis del crecimiento en frutos de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cultivados bajo invernadero. *Agron. Colomb.* 25(2), 2-12.

Jerónimo J. Pérez Parra. (2017). Tecnología y manejo del cultivo en invernaderos: retos y factores de éxito. 2019, de IFAPA Sitio web: https://www.mapa.gob.es/es/agricultura/temas/producciones-agricolas/3-visiondelainvestigacionespanaijeronimoperez_tcm30-379494.pdf

Dirección de Investigación y Evaluación Económica y Sectorial. (2016). Panorama Agroalimentario. FIRA, 1, 36.

Tierranegra-García, N., Salinas-Soto, P., Torres-Pacheco, I., Ocampo-Velázquez, R. V., Rico-García, E., Mendoza-Díaz, S. O., et al. (2011). Effect of foliar salicylic acid and methyl jasmonate applications on protection against pill-bugs in lettuce plants (*Lactuca sativa*). *Phytoparasitica* 39, 137–144. doi: 10.1007/s12600-011-0147-7

Mejía-Teniente, L., Durán-Flores, F. D. D., Chapa-Oliver, A. M., Torres-Pacheco, I., Cruz-Hernández, A., González-Chavira, M. M., et al. (2013). Oxidative and molecular responses in *Capsicum annuum* L. after hydrogen peroxide, salicylic acid and chitosan foliar applications. *Int. J. Mol. Sci.* 14, 10178–10196. doi: 10.3390/ijms140510178

Baenas, N., García-Viguera, C., and Moreno, D. A. (2014). Biotic elicitors effectively increase the glucosinolates content in *Brassicaceae* sprouts. *J. Agric. Food Chem.* 62, 1881–1889. doi: 10.1021/jf404876z

Hooper, P. L., Hooper, P. L., Tytell, M., and Vigh, L. (2010). Xenohormesis: health benefits from an eon of plant stress response evolution. *Cell Stress Chaperones* 15, 761–770. doi: 10.1007/s12192-010-0206-x

Liu, J., Liu, Y., Wang, Y., Zhang, Z.-H., Zu, Y.-G., Efferth, T., et al. (2016). The combined effects of ethylene and MeJA on metabolic profiling of phenolic compounds in *Catharanthus roseus* revealed by metabolomics analysis. *Front. Physiol.* 7:217. doi: 10.3389/fphys.2016.00217

ANEXO: CODIGO DE PROGRAMA PARA MEDIR ÁREA FOLIAR DE LA PLANTA EN MATLAB

```
clear; % Remove items from the workspace
j=0; % Sets the counter "j" equals to zero
for i=52:52 % The index "i" runs from 49 to 57 for sets of nine
photos
X = [112 104 111 116 111 i]; % Photo name in numeric code
Y = char (X) % Gets the photo mane from the numeric code
A = imread (Y,'jpg'); % Reads the photo into A
C = (double(A(:, :, 1)) + double(A(:, :, 2)) + double(A(:, :,
3))) / 3;
% C is the mean for RGB
Cota_color = 130; % Sets the reference color
Pre_Area = find(C <= Cota_color);
% Takes into account the pixels which value is less than "Cota-
color"
C(Pre_Area) = 0; % Sets a color for the pixels that are counted
image(uint8(C)) % For calibration process
Areal = length(Pre_Area); % Gets an area in pixels
F = 3.0351e-004; % Must be calibrated each time the program is
used
Real_area = Aréal * F; % Gets the real area (cm2) from the area
in pixels
j=j+1; % Increases the counter "j" by one
Varea(j,:) = Real_area; % Saves the area values in a vector
"Varea"
end % Ends the cycle witch started in line 3
Varea % Displays the vector area in the Matlab Command window
```