



Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Ingeniería

Doctorado en Ingeniería de Biosistemas

**La Influencia de la composición orgánica del suelo de su  
centro de origen en la hormesis del chile**

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de

Doctor en Ingeniería de Biosistemas

**Presenta:**

MC. Israel Macías Bobadilla

**Dirigido por:**

Dr. Irineo Torres Pacheco

Dr. Irineo Torres Pacheco

Presidente

Dr. Ramón Gerardo Guevara González

Secretario

Dra. Rosalía v. Ocampo Velázquez

Vocal

Dr. Enrique Rico García

Suplente

Dra. Angela María Chapa Oliver

Suplente

Centro Universitario, Querétaro, Qro.

Fecha de aprobación por el Consejo Universitario Agosto del 2020

México

## RESUMEN

El Chile (*Capsicum spp.*) Es uno de los cultivos hortícolas más importantes económicamente del mundo; Su producción en la industria alimentaria y farmacéutica ha aumentado en todo el mundo. La importancia económica de este cultivo se debe, en parte, a las propiedades nutraceuticas derivadas de su metabolismo secundario. La sequía es el principal factor ambiental que afecta la producción de cultivos. Sin embargo, los estudios que involucran déficit hídrico solo consideran respuestas a corto plazo al déficit agudo de agua en lugar de procesos de aclimatación a largo plazo a través de déficits hídricos moderados y gradualmente crecientes, lo que omite la dinámica y el perfil del metabolismo secundario que forma parte del sistema de defensa de la planta contra este factor de estrés. El presente estudio tuvo como objetivo identificar los diferentes mecanismos que utilizan las plantas de Chile en la respuesta adaptativa (hormesis) para hacer frente a la sequía utilizando una disminución y un aumento progresivos de la disponibilidad de agua, condiciones que ocurren comúnmente en campos abiertos para cultivos. Se aplicaron cuatro tratamientos: déficit gradual de agua (GWD), inicialmente anegado con déficit gradual de agua (IWGD), déficit repentino de agua con recuperación gradual (SWDR) y sin déficit de agua (NDW). Estas condiciones deberían representar una situación más real similar a la que enfrentan las plantas en el ambiente agrícola. Para determinar los mecanismos de respuesta asociados con el déficit de agua, se evaluaron los cambios en las variables fenológicas, la acumulación de prolina y la expresión de genes de fenilalanina amonio-liasa (*pal*), chalcone sintasa (*chs*), peroxidasa (*pod*) y superóxido dismutasa (*sod*) en plantas de Chile que crecen bajo diferentes regímenes de riego en dos tipos de suelos contrastantes (suelo del centro de origen y suelo arcillo) de áreas donde se cultiva Chile en el centro de México. Las variables evaluadas mostraron una respuesta diferenciada de los mecanismos en plantas que crecen bajo diferentes niveles de déficit hídrico. Dada la respuesta diferencial observada para la expresión génica y las variables morfológicas y bioquímicas estudiadas en plantas de Chile contra diferentes regímenes hídricos en este trabajo, esto puede tener implicaciones para un uso más eficiente del agua en cultivos con alto contenido nutraceutico, además de las perspectivas de uso de productos derivados del metabolismo secundario en la industria farmacéutica.

## SUMMARY

Chili pepper (*Capsicum spp.*) is one of the most economically important horticultural crops in the world; its production for the food and pharmaceutical industries has been increasing worldwide. The economic importance of this crop is due, in part, to the nutraceutical properties derived from its secondary metabolism. Drought is the main environmental factor that affects crop production, Nevertheless, studies involving water deficit have considered short-term responses to sharp water deficit rather than long-term acclimation processes through moderate and gradually increasing water deficits, which omits the dynamics and profile of the secondary metabolism that are part of the plant's defense system against this stress factor. The present study aimed to identify the different mechanisms that chili pepper plants use in the adaptive response (hormesis) to cope drought stress using a progressive decrease and increase of water availability, conditions that commonly occur in open fields for crops. Four treatments were applied: gradual water deficit (GWD), initial water-logging with gradual water deficit (IWGD), sudden water deficit with gradual recovery (SWDR), and no water deficit (NDW). These conditions should represent a more real situation similar to that faced by plants in the agricultural environment. In order to evaluate the response mechanisms associated with these water deficits, changes in phenological variables, proline accumulation, and the gene expression of Phenylalanine ammonia-lyase (*pal*), Chalcone synthase (*chs*), Peroxidase (*pod*), and Superoxide dismutase (*sod*) were measured in chili pepper plants growing on land under different irrigation regimes in two contrasting soil types (soil of the center of origin and clay soil) in areas where chili pepper is cultivated in central Mexico. The variables evaluated showed a differentiated response of the mechanisms in plants growing under different levels of water deficit. Given the differential response observed for the gene expression and morphological and biochemical variables studied in chili plants against different water regimes in this work, this may have implications for more efficient use of water in crops with high nutraceutical content, in addition to prospects for use of products derived from secondary metabolism in the pharmaceutical industry.

## **Agradecimientos**

El M.C. Israel Macias Bobadilla agradece a CONACYT por la beca otorgada

Al Dr. Irineo Torres Pacheco, por trasmitirme sus conocimientos.

A la Dra. Marcela Vargas Hernández, por los consejos y su apoyo.

Dirección General de Bibliotecas UAQ

# INDICE

	Página
Resumen .....	i
Summary .....	ii
Agradecimientos .....	iii
Índice .....	iv
Índice de figuras .....	vi
Índice de Cuadros .....	xii

## I. Índice

1.1 Introducción.....	1
1.2 Motivación .....	3
1.3 Hipótesis.....	4
1.4 Objetivo General.....	4
1.5 Objetivos particulares.....	4

## II. REVISIÓN DE LITERATURA.....5

2.2 Antecedentes .....	5
2.2 El Chile.....	7
2.2.1 <i>Capsicum annum</i> .....	7
2.3 Centros de origen.....	8
2.4 El Suelo .....	9
2.5 Materia orgánica.....	13

2.6	Hormesis.....	13
-----	---------------	----

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS.....17**

3.1	Determinación de las características fisicoquímicas del suelo del centro de origen y diversificación. ....	17
-----	--	----

3.1.1	Recolección de muestras .....	17
-------	-------------------------------	----

3.1.3	Análisis físicos.....	18
-------	-----------------------	----

3.1.4	Análisis químicos .....	18
-------	-------------------------	----

3.2	Establecimiento del experimento.....	18
-----	--------------------------------------	----

3.3	Cálculo del tipo de estrés.....	19
-----	---------------------------------	----

3.4	Sistema de riego .....	21
-----	------------------------	----

3.5	Medición de las variables morfológicas .....	22
-----	--	----

3.6	Determinación de la concentración de prolina en hojas de <i>Capsicum annuum L</i> .....	22
-----	---	----

3.7	Extracción de ARN y síntesis de ADNc.....	22
-----	---	----

3.8	Condiciones y análisis de RT-qPCR .....	23
-----	---	----

3.9	Análisis estadístico .....	24
-----	----------------------------	----

### **IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES..... 25**

4.1	Mecanismos de respuesta de déficit hídrico en suelo del centro de origen y convencional sobre variables morfológicas y bioquímicas de <i>Capsicum annuum L</i> . ....	25
-----	---	----

4.2	Efectos del tipo de tratamiento de sequía en variables morfológicas y bioquímicas de <i>Capsicum annuum L</i> .....	27
-----	---	----

4.3	Efectos de los tratamientos de déficit hídrico en las variables morfológicas y bioquímicas de <i>Capsicum annuum L</i> . en suelos con y sin microbiota .....	34
-----	---	----

V. CONCLUSIONES .....	41
-----------------------	----

## Índice de figuras

Figura	Página
<b>Figura 1.</b> Centros de origen de la domesticación y diversificación genéticas de plantas cultivadas (Vavilov, 1927). .....	9
<b>Figura 2.</b> Porcentajes de arcilla, limo y arena en las clases de textura básica (USDA, 1993). .....	11
<b>Figura 3.</b> Curva dosis-respuesta que muestra las características de la zona de hormesis. NOAEL (nivel donde no se observa efecto adverso) (Calabrese, 2012). .....	15
<b>Figura 4.</b> Diagrama de procesamiento de muestras de suelo.....	17
<b>Figura 5.</b> Los diferentes tratamientos de estrés hídrico evaluados en el estudio. La figura muestra los tratamientos de estrés hídrico: déficit gradual de agua (GWD) (a), anegamiento inicial con déficit gradual de agua (IWGD) (b), déficit repentino de agua con recuperación gradual (SWDR) (c), sin déficit agua (NDW) (d). El eje Y representa el porcentaje del volumen de agua que corresponde a la capacidad del campo; el eje X representa los días durante los cuales se aplicó el volumen de riego.....	19
<b>Figura 6.</b> Sistema de control del riego utilizado para cada condición de estrés. El esquema representa una de las parcelas experimentales. ....	21
<b>Figura 7.</b> Resultados de las variables morfológicas de las plantas de chile cultivadas en suelo del centro de origen y convencional. Comparación de medias $\pm$ D.E. mediante la prueba de Tukey para las variables morfológicas que se evaluaron en suelo del centro de origen y convencional: altura (A), diámetro del tallo (B), número de hojas (C), número de frutos (D). En todos los casos, $p = 0.05$ . ....	26
<b>Figura 8.</b> Acumulación de prolina en hojas de plantas de chile cultivadas en suelo del centro de origen y convencional. Comparación de medias y S.E. por la prueba de Tukey. En todos los casos, $p = 0.05$ .....	27

**Figura 9.** Resultados del rendimiento de la planta de chile cultivado bajo diferentes regímenes de estrés hídrico. Resultados de la comparación de medias  $\pm$  D.E. mediante la prueba de Tukey de las variables morfológicas con la respuesta en ambos tipos de suelo agregado. En todos los casos,  $p = 0.05$ ..... 28

**Figura 10.** Resultados de la acumulación de prolina y la expresión génica asociada con la respuesta al estrés en chile cultivado bajo diferentes regímenes de estrés hídrico. Resultados de la comparación de medias  $\pm$  D.E. mediante la prueba de Tukey de las variables bioquímicas fenilalanina amonio-liasa (*pal*) (A), peroxidasa (*pod*) (B), prolina (C) y superóxido dismutasa (*sod*) (D) con la respuesta en ambos tipos de suelo agregado. En todos los casos,  $p \leq 0.05$ ..... 29

**Figura 11.** Rendimiento del chile cultivado en suelo convencional bajo los diferentes regímenes de riego. Resultados de la comparación de medias  $\pm$  D.E. mediante la prueba de Tukey de las variables morfológicas: altura (A), diámetro del tallo (B), número de hojas (C) y número de frutos (D). En todos los casos,  $p = 0.05$ ..... 30

**Figura 12.** Acumulación de prolina y expresión del gen del *sod* en plantas de chile cultivadas en suelo convencional bajo los diferentes regímenes de riego. Resultados de la comparación de medias  $\pm$  D.E. mediante la prueba de Tukey de las variables bioquímicas prolina (A) y superóxido dismutasa (*sod*) (B). En todos los casos,  $p = 0.05$ . ..... 31

**Figura 13.** Rendimiento del Chile cultivado en suelo del centro de origen bajo los diferentes regímenes de riego. Resultados de la comparación de medias  $\pm$  D.E. mediante la prueba de Tukey de las variables morfológicas: diámetro del tallo (A), número de hojas (B) y número de frutos (C). En todos los casos,  $p = 0.05$ ..... 32

**Figura 14.** Respuesta bioquímica de las plantas de chile cultivadas en el suelo del centro de origen bajo los diferentes regímenes de riego. Resultados de la comparación de medias  $\pm$  S.E. por Tukey de las variables bioquímicas fenilalanina amonio-liasa (*pal*) (A), peroxidasa (*pod*) (B), prolina (C) y superóxido dismutasa (*sod*) (D). En todos los casos  $p = 0.05$ . ..... 33



## Índice de Tablas

Tabla	Página
<b>Tabla 1.</b> Principales sistemas de clasificación físico- mecánicas del suelo. (USDA, 1993) .....	10
<b>Tabla 2.</b> Tipos de suelo factores de agregación (Bronick y Lal, 2005).....	12
<b>Tabla 3.</b> Características físicas de los suelos utilizados en el estudio .....	20
<b>Tabla 4.</b> Características químicas de los suelos utilizados en el estudio .....	20
<b>Tabla 5.</b> Variables morfológicas de las plantas de chile cultivadas en suelo convencional con y sin microbiota bajo los diferentes regímenes de riego. Resultados de la comparación de medias, Mediante la prueba de Tukey. En todos los casos, $p = 0.05$ . Letras diferentes representan diferencias estadísticamente significativas. Suelo convencional con microbiota y déficit gradual de agua (GWD-CON-CM), suelo convencional sin microbiota y déficit gradual de agua (GWD-CON-SM), suelo convencional con microbiota inicialmente anegado con déficit gradual de agua (IWGD-CON-CM), suelo convencional sin microbiota inicialmente anegado con déficit gradual de agua (IWGD-CON-SM), suelo convencional con microbiota con déficit inicial de agua con recuperación gradual de agua (SWDR-CON-CM), suelo convencional sin microbiota con déficit inicial de agua con recuperación gradual de agua (SWDR-CON-SM), suelo convencional con microbiota sin déficit de agua (NWD-CON-CM), suelo convencional sin microbiota sin déficit de agua (NWD-CON-SM)..----	34
<b>Tabla 6.</b> Variables bioquímicas de plantas de chile cultivadas en suelo convencional con y sin microbiota bajo los diferentes regímenes de riego. Resultados de la comparación de medias por la prueba de Tukey. En todos los casos, $p = 0.05$ ; letras diferentes representan diferencias estadísticamente significativas. Suelo convencional con microbiota y déficit gradual de agua (GWD-CON-CM), suelo convencional sin microbiota y déficit gradual de agua (GWD-CON-SM), suelo convencional con microbiota inicialmente anegado con déficit gradual de agua (IWGD-CON-CM), suelo convencional sin microbiota inicialmente anegado con déficit gradual de agua (IWGD-CON-SM), suelo convencional con microbiota con déficit inicial de agua con recuperación gradual de agua (SWDR-CON-CM), suelo convencional sin microbiota con déficit inicial de agua con recuperación gradual de agua (SWDR-CON-SM), suelo convencional con microbiota sin déficit de agua (NWD-CON-CM), suelo convencional sin microbiota sin déficit de agua (NWD-CON-SM).-----	35
<b>Tabla 7.</b> Variables morfológicas de las plantas de chile cultivadas en suelo del centro de origen con y sin microbiota bajo los diferentes regímenes de riego. Resultados de la comparación de medias mediante la prueba de Tukey. En todos los casos, $p = 0.05$ . Letras diferentes representan diferencias estadísticamente significativas. Suelo del centro de origen con microbiota y déficit gradual de agua (GWD-CO-CM), suelo del centro de origen sin microbiota y déficit gradual de agua (GWD-CO-SM), suelo del centro de origen con	

microbiota inicialmente anegado con déficit gradual de agua (IWGD-CO-CM), suelo del centro de origen sin microbiota inicialmente anegado con déficit gradual de agua (IWGD-CO-SM), suelo del centro de origen con microbiota con déficit inicial de agua con recuperación gradual de agua (SWDR-CO-CM), suelo del centro de origen sin microbiota con déficit inicial de agua con recuperación gradual de agua (SWDR-CO-SM), suelo del centro de origen con microbiota sin déficit de agua (NWD-CO-CM), suelo del centro de origen sin microbiota sin déficit de agua (NWD-CO-SM).----- 36

**Tabla 8.** Variables bioquímicas de las plantas de Chile cultivadas en suelo del centro de origen con y sin microbiota bajo los diferentes regímenes de riego. Resultados de la comparación de medias mediante la prueba de Tukey. En todos los casos,  $p = 0.05$ . Letras diferentes representan diferencias estadísticamente significativas. Suelo del centro de origen con microbiota y déficit gradual de agua (GWD-CO-CM), suelo del centro de origen sin microbiota y déficit gradual de agua (GWD-CO-SM), suelo del centro de origen con microbiota inicialmente anegado con déficit gradual de agua (IWGD-CO-CM), suelo del centro de origen sin microbiota inicialmente anegado con déficit gradual de agua (IWGD-CO-SM), suelo del centro de origen con microbiota con déficit inicial de agua con recuperación gradual de agua (SWDR-CO-CM), suelo del centro de origen sin microbiota con déficit inicial de agua con recuperación gradual de agua (SWDR-CO-SM), suelo del centro de origen con microbiota sin déficit de agua (NWD-CO-CM), suelo del centro de origen sin microbiota sin déficit de agua (NWD-CO-SM).----- 37

## I. Introducción

El género *Capsicum* spp. (chile) incluye de 25 a 30 especies, de las cuales cinco se cultivan: *C. annuum* L., *C. frutescens* L., *C. chinense* Jaqch, *C. baccatum* y *C. pubescens*. Estas cinco especies han sido domesticadas y actualmente se cultivan (Heiser y Pickersgill, 1969). El chile (*Capsicum* spp.) Es uno de los cultivos hortícolas más importantes económicamente a nivel mundial; Se encuentra entre los 50 principales productos alimenticios según la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). El consumo de chile como alimento fresco o condimento ha aumentado en todo el mundo (Orobiyi et al., 2013). Este aumento también se debe a que se utiliza como aditivo en las industrias alimentaria y farmacéutica (González-Zamora et al., 2013). La importancia económica de este cultivo se debe, en parte, a las propiedades nutraceuticas derivadas a los metabolitos secundarios. Es una fuente importante de compuestos bioactivos como las vitaminas A, E y C; compuesto fenólico; flavonoides; y capsaicinoides (Orobiyi et al., 2013). Estos compuestos, todos metabolitos secundarios, se producen en respuesta a diferentes fuentes de estrés (Vargas-Hernandez et al., 2017). El estrés por sequía ocurre cuando la disponibilidad del agua en el suelo disminuye y las condiciones ambientales contribuyen a su pérdida en el suelo (Hossain et al., 2016). Durante un período de sequía, las plantas aumentan su actividad fisiológica para enfrentan las condiciones de déficit de agua, lo que provoca senescencia y retraso en el crecimiento (Gökmen y Ceyhan, 2018). El estrés por sequía es un estrés multidimensional que generalmente conduce a cambios en los rasgos fisiológicos, morfológicos, ecológicos, bioquímicos y moleculares de las plantas (Anjum et al., 2017). A nivel fisiológico, un metabolito que se ha asociado de forma recurrente con la respuesta al estrés por sequía es la prolina. La prolina es un osmolito que se acumula en las células vegetales para mantener la presión de turgencia celular (Kaul et al., 2017). Otros mecanismos implican que las enzimas, como la fenilalanina amonio-liasa (PAL, EC 4.3.1.5), la chalcona sintasa (CHS, EC 2.3.1.74), la peroxidasa (POD, EC 1.11.1.7) y el superóxido dismutasa (SOD, EC 1.15. 1.1), tienen roles esenciales en la respuesta al estrés por sequía de las plantas. PAL es responsable de la desaminación no oxidativa de la L-fenilalanina para la formación de ácido trans-cinámico en las plantas (Z. Wang et al., 2018). En condiciones de estrés por sequía, la actividad PAL aumenta (Hu et al., 2019; Ighodaro y Akinloye, 2018). Es el primer paso en el metabolismo de los fenilpropanoides; es decir, la activación de PAL desencadena la producción de compuestos fenólicos, como flavonoides, antocianinas y taninos, entre otros (Jaleel et al., 2009; Zandalinas et al., 2018). CHS es una enzima relacionada con el metabolismo secundario; esta enzima cataliza el primer paso en la vía biosintética de los flavonoides (Ighodaro y Akinloye, 2018). En el tabaco (*Nicotiana tabacum*), la sobreexpresión de CHS genera plantas mayor tolerancia a la sequía (Orobiyi et al., 2013). Por un lado, en el chile, existe una asociación entre la expresión génica de la enzima CHS y la producción de flavonoides con tolerancia a la sequía y UV-B (Rodríguez-Calzada et al., 2019). Por otro lado, POD y SOD son parte del sistema de defensa antioxidante. SOD es responsable de la dismutación del anión superóxido a O<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. (Ighodaro y Akinloye, 2018) En el garbanzo, el estrés por sequía induce un aumento en la actividad de las enzimas peroxidasa y superóxido dismutasa, además del contenido de prolina (Gokmen y Ceyhan, 2015). Actualmente, el uso eficiente del agua en los cultivos es de gran

importancia. El estudio de diferentes regímenes de riego dará una mejor comprensión sobre el uso del agua en la producción de cultivos. La mayoría de los estudios previos que involucran déficit hídrico han considerado respuestas a corto plazo al déficit agudo de agua en lugar de procesos de aclimatación a largo plazo a través de déficits hídricos moderados y en aumento gradual. Por lo tanto, los estudios futuros no solo deben considerar los períodos de exposición al déficit hídrico, sino también una disminución o aumento progresivo en la disponibilidad de agua para la planta para representar una situación más real que enfrentan las plantas en campos abiertos. Este estudio tuvo como objetivo identificar los diferentes mecanismos que utilizan las plantas de Chile para hacer frente al estrés por sequía al proporcionar una disminución y un aumento progresivos de la disponibilidad de agua y la influencia que tiene las características del suelo en la respuesta adaptativa de la planta. Los diferentes regímenes de riego aplicados fueron déficit gradual de agua (GWD), anegamiento inicial con déficit gradual de agua (IWGD), déficit repentino de agua con recuperación gradual (SWDR) y ningún déficit de agua (NDW). Estos se aplicaron en dos tipos de suelos contrastantes (suelo del centro de origen y suelo arcillo) donde se cultiva Chile en el centro de México. Estudiamos los impactos de estas condiciones en las variables morfológicas, la acumulación de prolina y la expresión de los genes de fenilalanina amonio-liasa (*pal*), Chalcone sintasa (*chs*), peroxidasa (*pod*) y superóxido dismutasa (*sod*). Estos factores se utilizaron como indicadores de los posibles mecanismos utilizados por las plantas de Chile bajo diferentes regímenes de riego. Nuestras condiciones de estudio representan una situación más real similar a la que enfrentan las plantas en ambientes agrícolas. Los resultados mostraron una respuesta diferenciada de los mecanismos utilizados por las plantas de Chile que crecieron bajo los diferentes niveles de déficit de agua y tipos de suelo contrastantes.

## 1.2 Motivación

El contenido de muchos de los metabolitos secundarios en los cultivos que se producen en la agricultura convencional ha disminuido, ya que esta se ha orientado esencialmente a reducir los factores de estrés para obtener mayores rendimientos (Leyva *et al.*, 2014). Estudios realizados de los cambios de la composición de 43 tipos de hortalizas entre 1950 y 1999 indican que 13 nutrientes han sufrido cambios, disminuyendo hasta en un 38 % (Donal-Devis, 2004). Otras investigaciones recientes sugieren que el nivel de tecnificación enfocado a la reducción de estrés en las plantas tiene como consecuencia una disminución significativa en la calidad nutricional de los frutos disminuyendo la cantidad de metabolitos secundarios (Leyva *et al.*, 2014). Por su parte en la agricultura orgánica se tiene mayor producción de estos bioactivos, pero los rendimientos suelen ser menores, algunas estimaciones establecen esas diferencias superiores al 30 % (Seufert, 2012). Por lo anterior, se requiere generar conocimiento que profile una agricultura que tenga en cuenta esto y no nos quedemos ni haciendo agricultura convencional ni haciendo agricultura orgánica, sino un nuevo enfoque que aproveche todos los conocimientos científicos, para asumir el reto de la agricultura en la actualidad, producir mucho, con buena calidad y con respeto al medio ambiente. Nuevas investigaciones indican que los factores clave y los procesos que conforman el microbioma de la rizosfera afectan los ciclos biogeoquímicos, el crecimiento de las plantas y su tolerancia al estrés biótico y abiótico, lo cual es clave para mejorar la calidad y productividad de las plantas (Philippot, 2013). Así, en este proyecto se propone determinar las características biológicas y fisicoquímicas de la fracción orgánica del suelo del centro de origen del chile (*Capsicum annuum* L.) y establecer su potencial de hormesis, entendiéndose por esto la síntesis de metabolitos secundarios.

### **1.3 Hipótesis**

Las características fisicoquímicas y biológicas de la fracción orgánica del suelo el centro de origen del chile (*Capsicum annuum* L.), determinan mayor respuesta hormética en esta especie que el que se genera si se cultiva de manera convencional.

### **1.4 Objetivo General.**

Determinar las características fisicoquímicas y biológicas de la fracción orgánica del suelo del centro de origen del chile (*Capsicum annuum* L.) y su efecto en el potencial hormético del fruto.

### **1.5. Objetivos particulares:**

- Determinar las características fisicoquímicas del suelo en el centro de origen del chile.
- Determinar el efecto del suelo del centro de origen en la hormesis del chile (*Capsicum annuum* L.).

## II. REVISIÓN DE LITERATURA.

### 2.1 Antecedentes

El chile (*Capsicum spp.*) es uno de los cultivos hortícolas de mayor importancia económica en el mundo, se encuentra entre los 50 principales productos alimentarios según la organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura “FAO” (FAOSTAT, 2013). México se destaca por ser el principal consumidor a nivel mundial y ser el centro de origen y diversificación (Kraft *et al.*, 2014). El estudio de los orígenes de los cultivos ha implicado tradicionalmente identificación áreas geográficas de alta diversidad morfológica, las poblaciones de muestreo de las especies progenitoras silvestres y la recuperación arqueológica de macro restos. Recientes investigaciones han añadido identificación de micro muestras vegetales (fitolitos, granos de polen, y almidón), bioquímica y genética molecular (Long *et al.*, 1989) y dos nuevos enfoques que consisten en modelos de distribución de especies y paleolingüística (Kraft *et al.*, 2014). Actualmente, estudios de paleolingüística y modelos de dispersión a parte de las técnicas ya utilizadas como genética, arqueología y botánica, han determinado que el centro de origen del chile se encuentra en Puebla en la región del valle de Tehuacán. Además, como centro de diversificación se establece la región noroeste del país entre Tamaulipas y Veracruz (Kraft *et al.*, 2014). Los frutos del chile además de formar parte de la dieta de la población en México, su consumo a nivel mundial ha ido en incremento como alimento fresco o condimento (Orobiyi *et al.*, 2013) este incremento también se debe a que es utilizado como aditivo en la industria alimentaria y farmacéutica (González-Zamora *et al.*, 2013). La importancia económica de este cultivo se debe en parte a las propiedades nutraceuticas derivadas de su metabolismo secundario, siendo fuente importante de compuestos bioactivos como vitamina A, E, C, compuestos fenólicos, flavonoides y capsaicinoides (Orobiyi *et al.*, 2013). Estos compuestos, todos metabolitos secundarios, se producen como respuesta a diferentes fuentes de estrés. La hormesis es el proceso que explica cómo se producen los metabolitos secundarios en respuesta a la exposición a bajas dosis de un agente de estrés ya sea químico o factor ambiental produciendo un efecto adaptativo benéfico en la célula o en el organismo (Calabrese, 2013).

En general, la respuesta que se induce en cualquier organismo debido a la hormesis son la síntesis de proteínas y factores de transcripción que regulan la expresión génica (Scott, 2014), estimulando respuestas adaptativas e induciendo la síntesis de metabolitos secundarios (Szumiel, 2012). La hormesis en la planta como consecuencia de su falta de movilidad ha ido evolucionando durante millones de años para soportar las tensiones ambientales, de fitopatógenos y depredadores (Hooper *et al.*, 2010). Todos los factores causantes de estrés se les denomina de manera general Factores Modificadores del Metabolismo o FMM (Torres-Pacheco *et al.*, 2012). Los FMM pueden clasificarse en bióticos y abióticos principalmente y pueden ser reconocidos en toda la planta tanto en la parte aérea como en la raíz, esta última por interacción con su sustrato. El sustrato principal o suelo que sirve de sostén para las plantas, lo constituye las rocas en la superficie terrestre, las cuales, con el tiempo, y a través de un conjunto de procesos de meteorización, son desintegradas y alteradas por acción de diversos agentes de naturaleza física, química y biológica (Navarro, 2003). La estructura del suelo es un factor clave en su funcionamiento, en su capacidad de soportar la vida vegetal y animal. La estructura del suelo se refiere al tamaño, forma y disposición de los espacios llenos y vacíos, su capacidad para retener y transmitir fluidos y sustancias inorgánicas y orgánicas, (Murphy, 2014). La materia orgánica del suelo se deriva de materiales orgánicos que se agregan al suelo: restos vegetales, exudados de las raíces materiales de origen animal, la biota del suelo y los productos sintetizados por microorganismos del suelo (Murphy, 2014). El contenido de total de materia orgánica que normalmente se encuentra en el suelo es alrededor del 3-5 % en peso (Navarro, 2003). En cuanto al efecto sobre las propiedades biológicas, favorece los procesos de mineralización, el desarrollo de la cubierta vegetal sirve de alimento a una multitud de microorganismos que estimulan el crecimiento de la planta (Julca-Otiniano *et al.*, 2006) además en la defensa frente a diferentes factores de estrés (Benhamou, 2000; Aliye *et al.*, 2008; Brader *et al.*, 2014). Los diversos microorganismos presentes en la materia orgánica, que han coexistido con la planta desde su aparición, han resultado en un proceso coevolutivo de los cuales algunos microorganismos han adquirido la capacidad de sintetizar sustancias biológicamente activas similares a los metabolitos secundarios producidos por la planta hospedera (Wang, 2011). Además, la planta en respuesta a la colonización por bacterias endófitas induce diferentes modificaciones en la pared celular como la deposición de calosa, pectina, celulosa y compuestos fenólicos que



inducen la formación de una barrera estructural en el sitio potencial de ataque del fitopatógeno (Benhamou, 2000) como también cambios morfológicos asociados con la resistencia sistémica inducida (ISR) reduciendo los síntomas de la enfermedad a un en lugares donde el propio endófito está ausente. (Aliye *et al.*, 2008). Los avances recientes de la inducción de la hormesis en las plantas debido a la colonización de bacterias indican que se puede modular la síntesis de los metabolitos secundarios (Brader *et al.*, 2014) lo anterior producto de la expresión de genes relacionados con la defensa lo que permite el incremento de fitoalexinas, fenoles y otros también ofrecen resistencia a la planta de la invasión de hongos patógenos, como las PRs (Manoharachary y Kala, 2014).

## **2.2 El chile**

El chile (*Capsicum* spp.), también conocido como aji, pimiento, chiltoma o morrón, es una hortaliza cultivada en todo el mundo que se caracteriza por sus frutos pungentes, aunque existen variedades con frutos dulce (Ortiz *et al.*, 2010). El consumo global de chile se destaca por su constante incremento anual; se estima que 25 % de la población mundial ingiere diariamente alguno de sus tipos (Villalon, 2013). Esta tiene su centro de origen y diversificación en México en la región centro-este (Kraft *et al.*, 2014). México se destaca por ser el principal consumidor a nivel mundial y tener la más alta diversidad genética de del género *Capsicum* (Ibarra-Torres, 2015), además de contar con variedades silvestres como *C. annum* var. *aviculare* y *C. annum* var. *Glabriusculum*, representados por numerosos tipos adaptados a diferentes condiciones agroecológicas y ampliamente usados en el país. Asimismo, cuenta con otras especies importantes de chile como *C. chinense* y *C. pubescens* (Hernández *et al.*, 2008). Desde el punto de vista agrícola y económico, la especie más importante es *C. annum* (Moreno-Pérez *et al.*, 2011).

### **2.2.1 *Capsicum annum***

México es el segundo mayor productor de frutos de *Capsicum* sp., el principal consumidor a nivel mundial y el país con la más alta diversidad genética de del género *Capsicum* (Ibarra-Torres, 2015). El pimiento (*Capsicum annum*) es una especie de chile dulce que carece de

capsaicina, compuesto que les da picor a las especies pertenecientes al género *Capsicum* (Nurul, 2015). Es consumida alrededor del mundo como alimento fresco o condimento (Orobiyi et al., 2013) y también es utilizado como aditivo en la industria alimentaria (González-Zamora et al., 2013). Los frutos de pimiento son fuente importante de compuestos derivados del metabolismo secundario como son ácido ascórbico (vitamina C), carotenoides (provitamina A), tocoferoles (Vitamina E), compuestos fenólicos, flavonoides y capsaicinoides (Orobiyi et al., 2013); así como calcio (Mateos et al., 2013). La especie *Capsicum annum* es la especie más cultivada de pimientos en el mundo (Misra, 2011). Las condiciones óptimas de cultivo para alcanzar grandes rendimientos y buena calidad de frutos son 22 a 23 °C, humedad relativa de 70 a 75%, en suelo un pH= 5.5 a 6.5 (INIFAP, 2013). Los rendimientos que se pueden alcanzar en invernaderos con cubierta plástica con tecnología intermedia son 130 t ha<sup>-1</sup>; al usar tecnología mediana-alta se alcanzan 180 t ha<sup>-1</sup>, y con alta tecnología se logran hasta 250 t ha<sup>-1</sup> (Moreno et al., 2011).

### 2.3 Centros de origen

México es un país de gran biodiversidad y centro de origen y diversificación genética de 15.4 % de todas las especies que constituyen el sistema alimentario mundial (Candolle, 2009). Se entiende por centro de origen al lugar donde ocurrió la diferenciación de una especie o población particular. Mientras que el centro de diversificación es el lugar donde una especie o grupo biológico particular presenta una mayor diversidad genética por la acción de diferentes factores naturales o culturales (Vavilov, 1927). Por otro lado, todas las plantas incluyendo al chile en estos lugares están asociadas con una o varias poblaciones de especies bacterianas (Huang et al., 2007; Provorov et al., 2011). El genetista ruso Kikolai Vavilov estableció ocho centros de origen, entre los que se encuentra Mesoamérica figura 1.



**Figura 1.** Centros de origen de la domesticación y diversificación genéticas de plantas cultivadas (Vavilov, 1927)

El estudio de los orígenes de los cultivos ha implicado tradicionalmente identificación áreas geográficas de alta diversidad morfológica, las poblaciones de muestreo de las especies progenitoras silvestres, y la recuperación arqueológica de macro restos. Recientes investigaciones han añadido identificación de micro muestras vegetales (fitolitos, granos de polen, y almidón), bioquímica y genética molecular (Long *et al.*, 1989) y dos nuevos enfoques que consisten en modelos de distribución de especies y paleolingüística (Kraft *et al.*, 2014). Actualmente estudios de paleolingüística y modelos de dispersión a parte de las ya utilizadas como genética, arqueología y botánica. Se ha determinado que el centro de origen del chile se encuentra en Puebla en la región del valle de Tehuacán. Además, como centro de diversificación se establece la región noroeste del país entre Tamaulipas y Veracruz (Kraft *et al.*, 2014).

## 2.4 El Suelo

El termino suelo, que se deriva del latín *solum* (piso), puede definirse como la capa superior de la tierra que se distingue de la roca sólida y en donde las plantas crecen (Navarro, 2003). La formación del suelo lo constituye las rocas en la superficie terrestre, las cuales, con el tiempo, y a través de un conjunto de procesos de motorización, son desintegradas y alteradas

por acción de diversos agentes de naturaleza física, química y biológica (Navarro, 2003). La estructura del suelo es un factor clave en el funcionamiento de suelo, en su capacidad de soportar la vida vegetal y animal (Bronick y Lal, 2005). Debido a que los centros de origen se distribuyen alrededor del mundo todos ellos poseen características únicas, como las condiciones climáticas y topográficas (Vavilov, 1987). Debido a esto el suelo tiene diferente estructura y composición dependiendo del centro de origen de cada cultivo. La estructura del suelo se refiere al tamaño, forma y disposición de los espacios llenos y vacíos, su capacidad para retener y transmitir fluidos y sustancias orgánicas e inorgánicas, (Lal, 1991). El tamaño de las partículas tiene una gran influencia sobre las propiedades del suelo, partículas gruesas como piedras, gravas y arenas tienen escasa actividad fisicoquímicas, las de menor tamaño como limos y arcillas son partículas de mayor actividad (Navarro, 2003). Los diferentes grupos según el tamaño de las partículas se denominan fracciones, separatas o separados, las clasificaciones más importantes corresponden a las establecidas por el departamento de agricultura de estados unidos (USDA), la sociedad Internacional de Ciencias del Suelo y la Unión Europea.

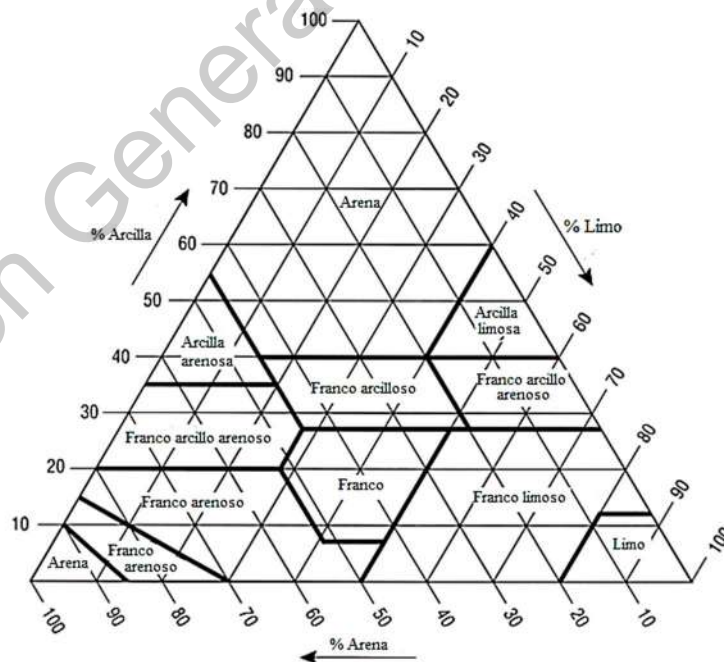
**Tabla 1.** Principales sistemas de clasificación físico- mecánicas del suelo. (USDA, 1993)

Sistema de clasificación	Fracciones	
	Denominación	Diámetros ( $\mu\text{m}$ )
Departamento de Agricultura EE.UU. (USDA)	Arena muy gruesa	$2000 > \phi > 1000$
	Arena gruesa	$1000 > \phi > 500$
	Arena media	$500 > \phi > 250$
	Arena fina	$250 > \phi > 100$
	Arena muy fina	$100 > \phi > 50$
	Limo	$50 > \phi > 2$
	Arcilla	$2 > \phi$
Sociedad internacional de la ciencia del suelo	Arena gruesa	$2000 > \phi > 200$
	Arena fina	$200 > \phi > 20$
	Limo	$20 > \phi > 2$

Sistema Europeo

Arcilla	$2 > \phi$
Arena gruesa	$2000 > \phi > 600$
Arena media	$600 > \phi > 200$
Arena fina	$200 > \phi > 60$
Limo grueso	$60 > \phi > 20$
Limo medio	$20 > \phi > 6$
Limo fino	$6 > \phi > 2$
Arcilla gruesa	$2 > \phi > 0.6$
Arcilla media	$0.6 > \phi > 0.2$
Arcilla fina	$0.2 > \phi$

En base a la textura del suelo, porcentaje de los diferentes tamaños de las partículas de los suelos, se consideran cuatro grandes grupos fundamentales: líticos, arenosos, francos y arcillosos (STPS). El departamento de agricultura de los Estados Unidos de Norte América (USDA) ha establecido un método de identificación para su correcta diferenciación figura 2.



**Figura 2.** Porcentajes de arcilla, limo y arena en las clases de textura básica (USDA, 1993).

Una estructura favorable del suelo y una alta estabilidad de agregados son importantes para la fertilidad del suelo (Bronick y Lal, 2005). Los agregados son partículas secundarias formadas a través de la combinación de partículas de minerales con sustancias orgánicas e inorgánicas, su compleja dinámica es el resultado de factores bióticos y abióticos (Kay, 1998). La agregación es controlada por diferentes mecanismos en diferentes tipos de suelos tabla 2, la tasa y estabilidad de agregación aumenta con el carbono orgánico del suelo y el área de superficie de arcilla y la capacidad de intercambio catiónico (Bronick y Lal, 2005).

**Tabla 2.** Tipos de suelo factores de agregación (Bronick y Lal, 2005).

Orden del suelo	Factor de agregación	Autores
Alfisolos	Materia orgánica del suelo	Dalal y Bridged, 1996 Oades y Waters, 1991
Andisoles	Arcilla alófana, Arcilla no cristalina	Torn <i>et al.</i> , 1997
Aridisoles	Materia inorgánica del suelo, Carbonatos y minerales de arcillas meteorizadas	Boix-Fayos <i>et al.</i> , 1998; Boettingers y Southard, 1995
Entisoles	Materia orgánica del suelo	Dalal y Bridge, 1996
Inceptisoles	Arcilla amorfa	Dalal y bridge, 1996
Oxisoles	Al <sup>3+</sup> y óxidos de Fe <sup>3+</sup> No cristalino Raíces de plantas y rizosfera Materia orgánica hidrofóbica	Oades y Waters, 1991 Dalal y Bridges, 1996
Espodosoles	Complejos oragano-metalicos Hidróxidos metálicos	De Conick, 1980
Ultisoles	Materia orgánica del suelo Sesquióxidos no cristalinos	Dalal y Bridge, 1996 Zhang y Horn, 2001
Vertisoles	Fracciones de tamaño de arcilla	Leinweber <i>et al.</i> , 1999

Los agregados además de proteger físicamente la materia orgánica influyen sobre las comunidades microbianas, la difusión del oxígeno, el flujo del agua determina la absorción y desorción de nutrientes (Wang *et al.*, 2011). Todos estos procesos tienen efecto directo en la dinámica de la materia orgánica y el ciclo de nutrientes.

## 2.5 Materia orgánica

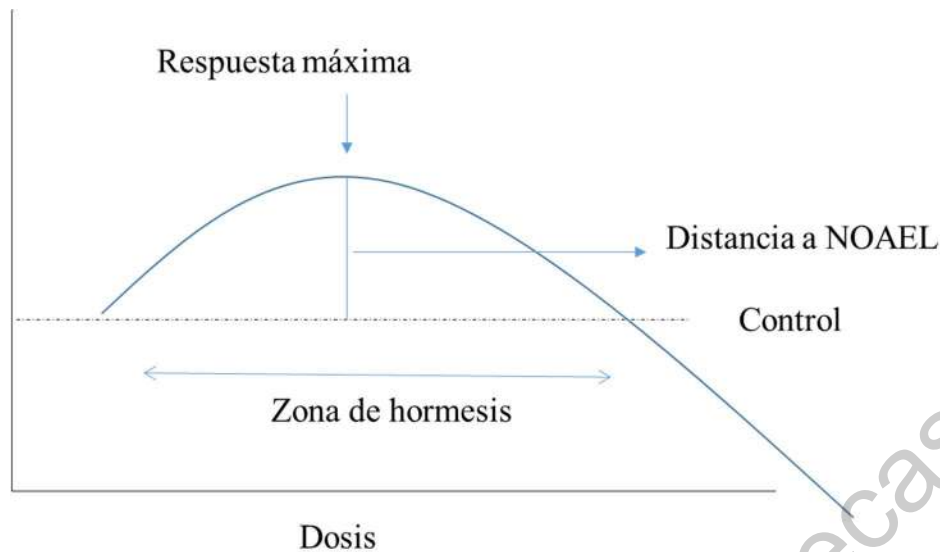
La materia orgánica del suelo se deriva de materiales orgánicos que se agregan al suelo: restos vegetales, exudados de las raíces materiales de origen animal, la biota del suelo y los productos sintetizados por microorganismos del suelo (Murphy, 2014). El contenido de total de materia orgánica que normalmente se encuentra en el suelo es alrededor del 3-5 % en peso (Navarro, 2003). Para la determinación de la cantidad de materia orgánica del suelo se mide la cantidad de carbono orgánico en el suelo este se convierte por un factor que varía de 1.72 a 2.0 dependiendo de la muestra (Baldock y Skejemstad 1999). En general se han definido tres tipos de materia orgánica: fracción lábil, fracción humus y fracción resistente (Six y Jastrow 2004). En cuanto al efecto sobre las propiedades biológicas, favorece los procesos de mineralización, el desarrollo de la cubierta vegetal sirve de alimento a una multitud de microorganismos que estimulan el crecimiento de la planta (Julca-Otiniano *et al.*, 2006) además en la defensa frente a diferentes factores de estrés (Benhamou, 2000; Aliye *et al.*, 2008; Brader *et al.*, 2014). La materia orgánica del suelo permite una liberación gradual de nutrientes a la planta permitiendo a las plantas una nutrición más balanceada con mejora en el rendimiento (Altieri y Nicholls, 2009).

## 6.1 Hormesis

Hormesis es un proceso en el cual la exposición a bajas dosis de un agente químico o factor ambiental que dañaría en grandes dosis induce un efecto adaptativo benéfico en la célula o en el organismo (Calabrese, 2012). Una característica que se observa en este proceso es una

curva bifásica con efecto estimulador a bajas dosis y efectos adversos a altas dosis (Calabrese, 2014). En casos de funciones fisiológicas normales en el organismo se observa una U invertida que representa un incremento, y por el contrario si se denota una disfunción se observa una forma de J (Jia *et al.*, 2013) Figura 3. Una función que describe este comportamiento es la propuesta por P. Brain y R. Cousens (Cedergreen, 2005). La hormesis es un proceso universal que está presente en todos los organismos vivos (Nunn *et al.*, 2014). Si este proceso no existiera habría inestabilidad en los sistemas y una disfunción en las mitocondrias (Nunn *et al.*, 2014). Se cree que la respuesta a este proceso esta mediada por diferentes receptores y vías de señalización (Calabrese, 2014). La respuesta hormética en los organismos involucra la expresión de genes que codifican para proteínas citoprotectoras como las chaperonas del tipo de las que responden a estrés térmico (heat shock proteins HSP), las enzimas antioxidantes, los factores de crecimiento, las metalotioneínas, entre otras (López-Diazguerrero, 2013). En plantas a los factores que provocan estrés como microorganismos, la aplicación de sustancias químicas exógenas como elicitores, fertilización, o bien, a estrés de tipo abiótico que desencadenan las vías de defensa, se les denomina Factores Mediadores de Metabolitos o FMM. (Torres-Pacheco *et al.*, 2012). Esos factores están envueltos en la regulación genética de metabolitos secundarios y genes relacionados con defensas (Saini, 2014). Los FMM se dividen en abióticos y bióticos; dentro de los abióticos se encuentran: sequía, salinidad, temperaturas extremas, metales pesados, intensidad luminosa, deficiencia nutricional, radiación UV-B, ozono, entre otros. Algunos inductores generales están presentes de manera constitutiva en el patógeno como componentes estructurales a estos se les denomina FMM bióticos como por ejemplo bacterias, hongos, virus, insectos, nematodos, y partes estructurales de los mismos (Saini, 2014). El efecto de los FMM sobre la respuesta adaptativa de las plantas depende de muchos factores como la concentración, el tipo y el tiempo de aplicación (Saini 2014). Tras el reconocimiento de un FMM se activan las vías de transducción de señales, que desencadenan la producción de especies activas de oxígeno (AOS), la biosíntesis de fitoalexinas, el refuerzo de la célula vegetal en la pared asociado con compuestos fenil-propanoides, eposición de tejido calloso, la síntesis de las enzimas de defensa, y la acumulación de proteínas (PR) (Thakur y Singh, 2013).





**Figura 3.** Curva dosis-respuesta que muestra las características de la zona de hormesis. NOAEL (nivel donde no se observa efecto adverso) (Calabrese, 2012)

Debido a la incapacidad que poseen las plantas para desplazarse de un lugar a otro, han tenido que desarrollar diversos mecanismos de protección. Las plantas están dotadas de sistema inmune innato para proteger contra los patógenos invasores (Swain, 2015). El sistema inmune innato sirve como un sistema de vigilancia contra el posible ataque de virus, bacterias, hongos y oomycetos (Vidhyasekaran, 2015). El ácido abscísico (ABA), etileno y ácido salicílico (SA) han sido reconocidas como las hormonas principales mediadoras de estreses biótico y abiótico (Kumar, 2013). Las plantas pueden activar las vías de defensa dependiendo en el tipo de patógeno, el ácido jasmónico (JA) y etileno respuestas dependientes parecen ser iniciadas por necrófitos, mientras que el ácido salicílico (SA) por biotróficos (Thakur y Singh, 2013). El sistema inmune planta se divide a grandes rasgos en dos la inmunidad inducida por patrones moleculares asociados a microorganismos (MTI) y la inmunidad activada por efectores (ETI). Las plantas también poseen resistencia sistémica adquirida (SAR), que proporciona defensa a largo plazo contra un amplio espectro de patógenos, es mediada por el ácido salicílico y provoca la respuesta de defensa en todo el sistema de la planta durante la infección de patógenos en un sitio particular (Muthamilarasan y Prasad, 2013). El primer paso para encender la defensa basal llamada inmunidad desencadenada por patrones (PTI) es el reconocimiento de patrones moleculares asociados a

patógenos, microorganismos o daño (PAMP, MAMP, DAMP) por parte de los receptores (PRR) (Swain, 2015). El SA es la señal de la hormona vegetal endógena más importante en la entrega del mensaje de PAMP para iniciar la transcripción de genes de defensa. (Vidhyasekaran, 2014). Después del reconocimiento se inicia la respuesta de la planta mediante la expresión de genes relacionados con la defensa lo que permite el incremento de fitoalexinas, fenoles y otros también ofrecen resistencia a la planta de la invasión de hongos patógenos, como las PRs (Manoharachary y Kala, 2014).

Dirección General de Bibliotecas UAQ

### III. Materiales y métodos

#### 3.1 Determinación de las características fisicoquímicas del suelo del centro de origen y diversificación.

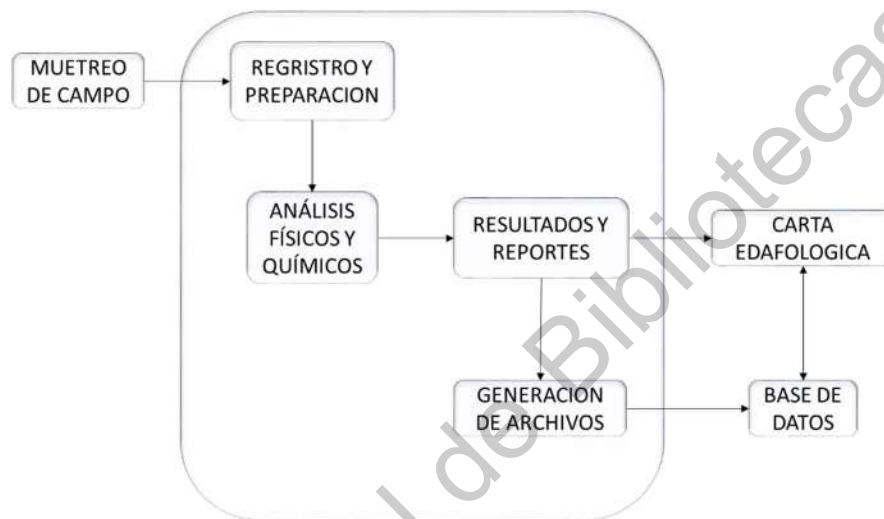


Figura 4. Diagrama de procesamiento muestras de suelo

##### 3.1.1 Recolección de muestras

Se tomaron muestras representativas de suelo convencional en las coordenadas  $20^{\circ} 35' 44''$  "N,  $100^{\circ} 49' 37''$  W. Se recogieron veinte muestras representativas utilizando los métodos estandarizados para la recolección de muestras de suelo. Se tomaron muestras representativas de suelo del centro de origen del chile en el estado puebla en el municipio de Coxcatlán (Kraig *et al*, 2014) en las coordenadas  $18^{\circ} 19' 47.622''$  'N,  $97^{\circ} 10' 23.498''$  'W, veinte muestras representativas. Las características del suelo se muestran a continuación en la Tabla 3. Para las muestras de suelo sin microbiota se aplicó Metam Sodio (45 % del ingrediente activo N-Metil Ditiocarbamato de Sodio) en ambos tipos de suelo a una concentración de 3000 ppm.

### **3.1.3 Análisis físicos**

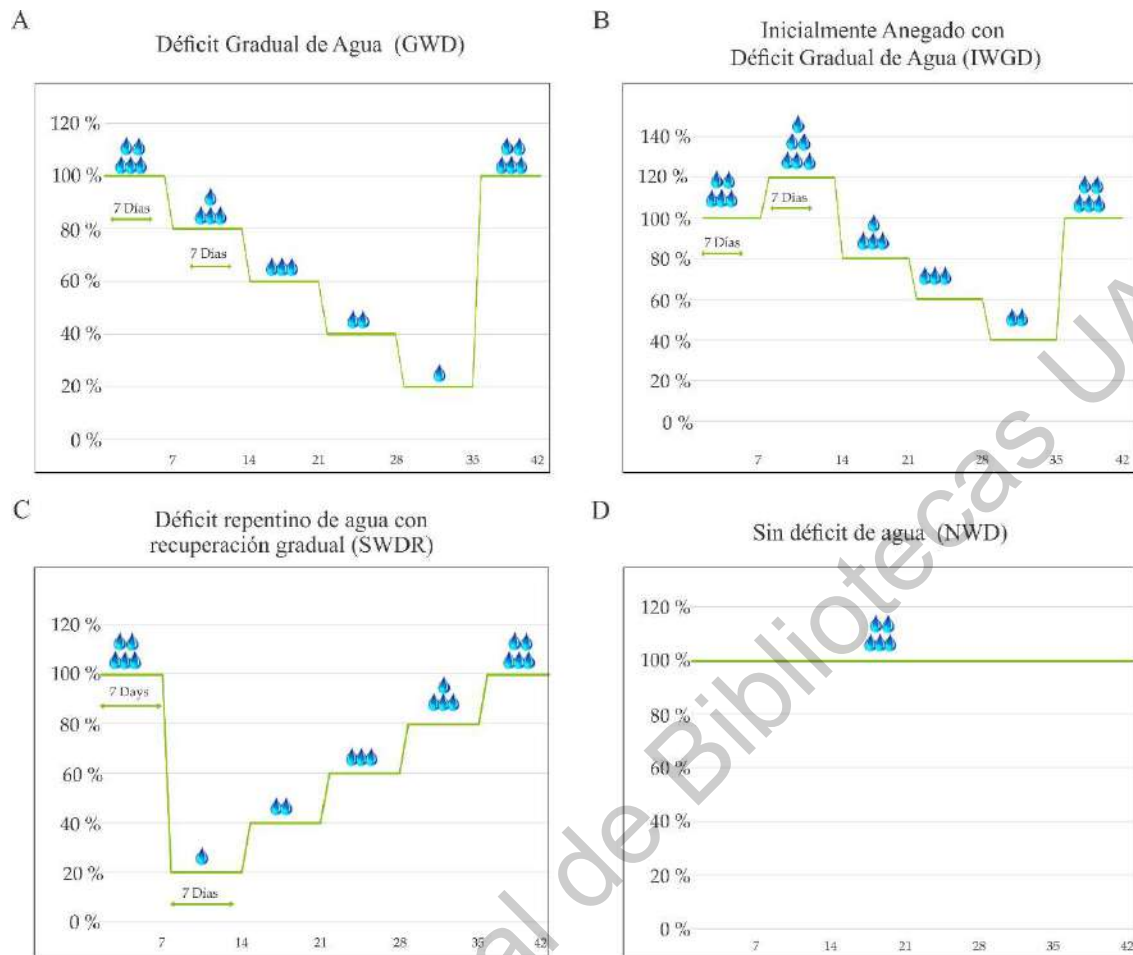
1. Se realizó el análisis de tamaño de partículas utilizando la técnica del hidrómetro de Bouyoucos, para determinar el porcentaje de arcilla, limo y arena.
2. Se midió la conductividad eléctrica (CE) con la técnica conductimétrica.
3. Se midió el pH por potenciómetro.

### **3.1.4 Análisis químicos**

1. Se cuantifico el contenido de materia orgánica, utilizando la técnica volumétrica del método de Walkley y Black.
2. Se determinó la capacidad de intercambio Cationico (CIC), por el método del acetato de amonio pH 7.

### **3.2 Establecimiento del experimento.**

El material vegetal utilizado para el presente estudio fue *Capsicum annum* L. cv. ROMEL F-1 de la casa de semillas CALORO®, lote: JR01107, pureza: 99%. Fue tratado con Thiram y tenía una madurez relativa uniforme. las plantas de chiles se manejaron en bolsas de cultivo, en invernadero. El diseño experimental utilizado fue parcelas divididas: una parcela completa con dos niveles de tipo de suelo, suelo del centro de origen y convencional, y en parcela chica cuatro regímenes de estrés hídrico: déficit gradual de agua (GWD) (Figura 5 A), inicialmente anegado con déficit gradual de agua (IWGD) (Figura 5 B), déficit repentino de agua con recuperación gradual (SWDR) (Figura 5 C) y sin déficit de agua (NDW) (Figura 5 D). La unidad experimental consistió en tres plantas y tres repeticiones. Se utilizó un diseño de bloques al azar.



**Figura 5.** Los diferentes tratamientos de estrés hídrico evaluados en el estudio. La figura muestra los tratamientos de estrés hídrico: déficit gradual de agua (GWD) (a), anegamiento inicial con déficit gradual de agua (IWGD) (b), déficit repentino de agua con recuperación gradual (SWDR) (c), sin déficit agua (NDW) (d). El eje Y representa el porcentaje del volumen de agua que corresponde a la capacidad del campo; el eje X representa los días durante los cuales se aplicó el volumen de riego.

### 3.3 Cálculo del tipo de estrés

Para calcular el agua disponible (AD) para la lámina de riego, se utilizó la fórmula de capacidad de campo (CC) para riego en función de la textura (arena (AR), arcilla (AC)) y el contenido de materia orgánica (MO) según Silva *et al.* (1) (Silva *et al.*, 1988). Para el cálculo del punto de marchitamiento permanente (PMP), la fórmula descrita por Silva *et al.* (2) (Silva

*et al.*, 1988) fue utilizado. El agua disponible se calculó con la siguiente fórmula (3) por cada diez centímetros de suelo, y la densidad aparente (DAP) se estimó en g / cm<sup>3</sup> usando la tabla de clase de textura del suelo del Soil Survey Staff (USDA). El suelo fue considerado como un horizonte único; La lámina de riego se calculó para 30 cm con un volumen de suelo para las bolsas de cultivo de 0.00340 m<sup>3</sup>. Las características del suelo a partir del cual se calculó la cantidad de agua utilizada para regar las plantas se muestran en la Tabla 3, y las características químicas se muestran en la Tabla 4.

$$CC = 21.977 - 0.186(AR) + 2.601(MO) + 0.127(AC)(1)$$

$$PMP = -5 + 0.74CC (2)$$

$$AD = (CC - PMP) * DAP (3)$$

**Table 3.** Características físicas de los suelos utilizados en el estudio.

Característica	Centro de origen	Convencional
Arcilla	21	55
Arena	59	25
Limo	20	20
Materia orgánica	8.71	1.81
DAP (g/cm <sup>3</sup> )	1.55	1.4

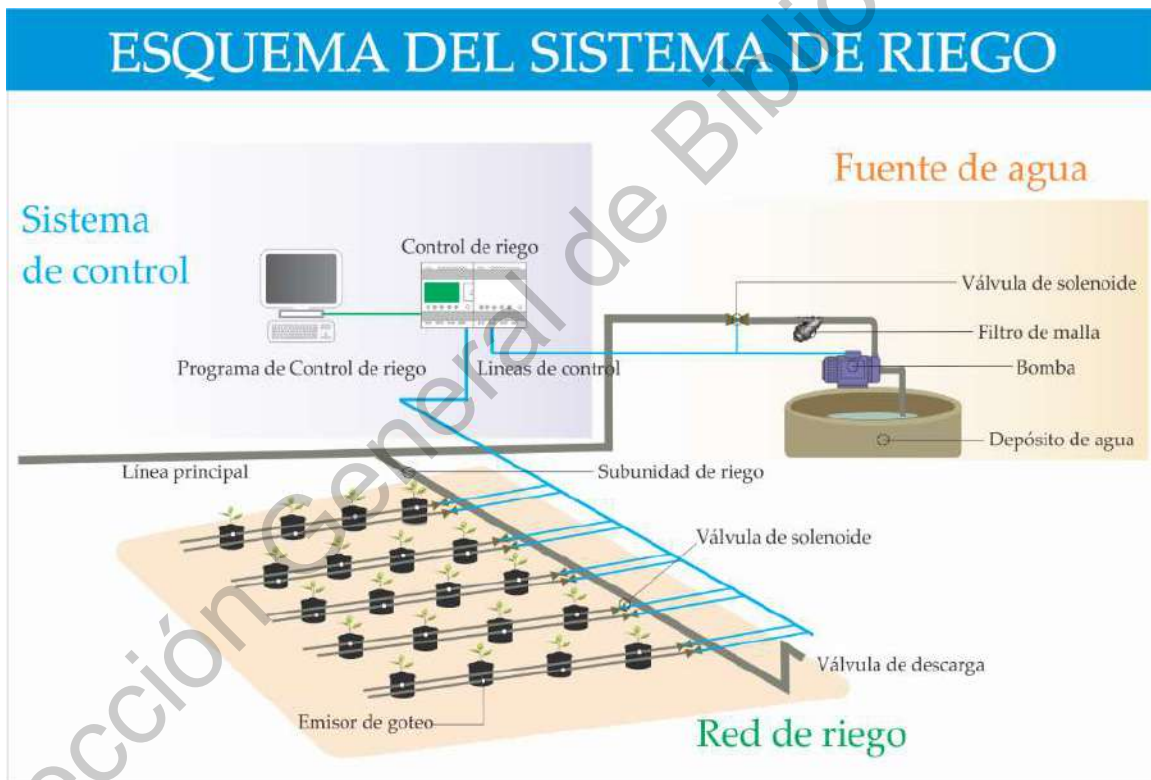
**Table 4.** Características químicas de los suelos utilizados en el estudio.

Característica	Centro de origen	Convencional
Nitrógeno	248 KN/Ha	39 KN/Ha
Fosforo	17.6 mg/kg	1.66 mg/kg
Calcio	6387.02 mg/kg	5091.11 mg/kg
Magnesio	1317.04 mg/kg	1301.47 mg/kg

Potasio	328.81 mg/kg	990.19 mg/kg
Sodio	9.97 mg/kg	263.78 mg/kg

### 3.4 Sistema de riego.

Las condiciones de estrés fueron inducidas por goteros Rainbirt® de 4 l / h, y el sistema de control de riego de precisión fue manejado por un modelo SmartReley Schneider® zelio ® y un sistema de válvula de solenoide independiente para cada nivel de estrés y tipo de suelo, como se muestra en la Figura 2.



**Figura 6.** Sistema de control del riego utilizado para cada condición de estrés. El esquema representa una de las parcelas experimentales.

### **3.5 Medición de las variables morfológicas.**

La altura de la planta se midió al comienzo de la aplicación de los tratamientos de estrés hídrico y luego nuevamente al final de cada tratamiento de estrés. Para determinar esta característica, se usó una cinta métrica. La cinta se colocó en la base del tallo principal a la altura del cepellón y se extendió hasta el ápice del crecimiento. El diámetro del tallo se midió en la base del tallo; Las lecturas se midieron al comienzo de la aplicación de los tratamientos y luego nuevamente al final de cada tratamiento de estrés utilizando un calibrador Vernier digital con una resolución de 0.01 mm. El número de frutos y hojas se cuantificó al final de la aplicación de los tratamientos.

### **3.6 Determinación de la concentración de prolina en hojas de *Capsicum annuum* L.**

La determinación de prolina se realizó de acuerdo con el método propuesto por Bates *et al.* (Bates et al., 1973) con algunas modificaciones. Primero, las muestras de hojas se molieron con nitrógeno líquido. Se homogeneizó una cantidad de 0,05 g de material vegetal en 1 ml de ácido sulfosalicílico acuoso al 3%, y se centrifugó a 12000 rpm durante 10 minutos. La fase acuosa se hizo reaccionar con ácido ninhidrina y ácido acético glacial en una relación 1: 1: 1. La reacción se incubó a 100 ° C durante 1 hora, y luego la reacción se detuvo en un baño de hielo. La mezcla de reacción se extrajo con tolueno mezclando vigorosamente durante 15 a 20 segundos. Finalmente, las muestras se leyeron a una absorbancia de 520 nm. La curva estándar se desarrolló a concentraciones de 50, 40, 30, 20, 10, 5 y 0 g / ml de L-prolina. Los resultados se informan como  $\mu$ moles de prolina / g de material de peso fresco.

### **3.7 Extracción de ARN y síntesis de ADNc**

Las muestras se molieron con nitrógeno líquido. El ARN total se extrajo de las hojas de pimiento usando el reactivo Trizol, de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Posteriormente, el kit ZYMO RESEARCH DIRECT ZOL RNA MINIPREP se purificó el ARN de acuerdo con las especificaciones del fabricante. La concentración, la pureza y la calidad se determinaron usando un espectrofotómetro Thermo Scientific™ AquaMate 8000 UV-Vis Thermo Scientific™ AquaMate 8000 (concentración, calidad y pureza). La síntesis de ADNc se realizó con el kit de síntesis de ADNc Thermo Scientific™ First Strand



(MAXIMA FIRST STRAND) para RT - qRT-PCR de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

### 3.8 Condiciones y análisis de RT-qPCR

El análisis de RT-qPCR se llevó a cabo en placas de 96 pocillos con el sistema de detección de PCR en tiempo real Touch Deep Well™ CFX96 (Bio-Rad). Los cebadores utilizados en este estudio fueron los reportados previamente y utilizaron un estudio en Chile por Rodríguez-Calzada et al. (Rodríguez-Calzada *et al.*, 2019): fenilalanina amonio-liasa (*pal*; AF081215): forward 5'-att cgc gct gca act aag a-3 ' y reverse 5'-cac cgt gta agg cct tgt tt-3'; chalcona sintasa (*chs*; FJ705842.1): forward 5'-tcg acc ctc agt caa acg ac-3 ' y reverse 5'-tgg gcc acg gaa agt aac tg -3'; superóxido dismutasa (*Mn-sod*; AF036936.2): forward 5'-ctc tgc cat aga cac caa ctt-3 ' y reverse 5'-cca agt tcg gtc ctt taa taa-3'; peroxidasa (*pod*; FJ596178.1): forward 5'-gca gca ttc ctc ctc cta ct-3 ' y reverse 5'-att tct ttg cct tgt tgt tg-3'; y beta-tubulina ( $\beta$ -TUB; EF495259.1): forward 5'-gag ggt gag tga gca gtt c-3 ', y reverse 5'-ctt cat cgt cat ctg ctg tc- 3'. Todo esto fue proporcionado por Eurofins, Alemania. A la mezcla de reacción, 5  $\mu$ l de iQ SYBR Green Supermix (Bio-Rad), 2  $\mu$ l de ADNc y los cebadores inversos (Tubulin 0.15  $\mu$ l, POD 0.15  $\mu$ l, PAL 0.15  $\mu$ l, CHS 0.9  $\mu$ l y Mn-SOD 0.15  $\mu$ L) y cebadores directos (Tubulin 0.3  $\mu$ L, POD 0.15  $\mu$ L, PAL 0.3  $\mu$ L, CHS 0.9  $\mu$ L y Mn-SOD 0.15  $\mu$ l) se agregaron para alcanzar una concentración final de 10  $\mu$ l. Las condiciones de ciclado para la amplificación de Tubulina, PAL y POD fueron 5 min a 94 ° C durante 40 ciclos (1 min a 94 ° C seguido de 1 min a 55 ° C). Finalmente, el calentamiento de la curva de fusión del amplicón se realizó a través de un paso de 31 s a 65 ° C y un aumento de 0,5 ° C a 95 ° C. En el caso de CHS y Mn-SOD, la temperatura de alineación cambió con una temperatura de 58 ° C. Las muestras de cada tratamiento se analizaron por triplicado usando la mezcla SyberGreen como fluoróforo para cuantificar por RT-qPCR (BIO-RAD® C1000), y los resultados se evaluaron usando el Método  $2^{-\Delta\Delta CT}$  (Livak & Schmittgen, 2001).

### **3.9 Análisis estadístico**

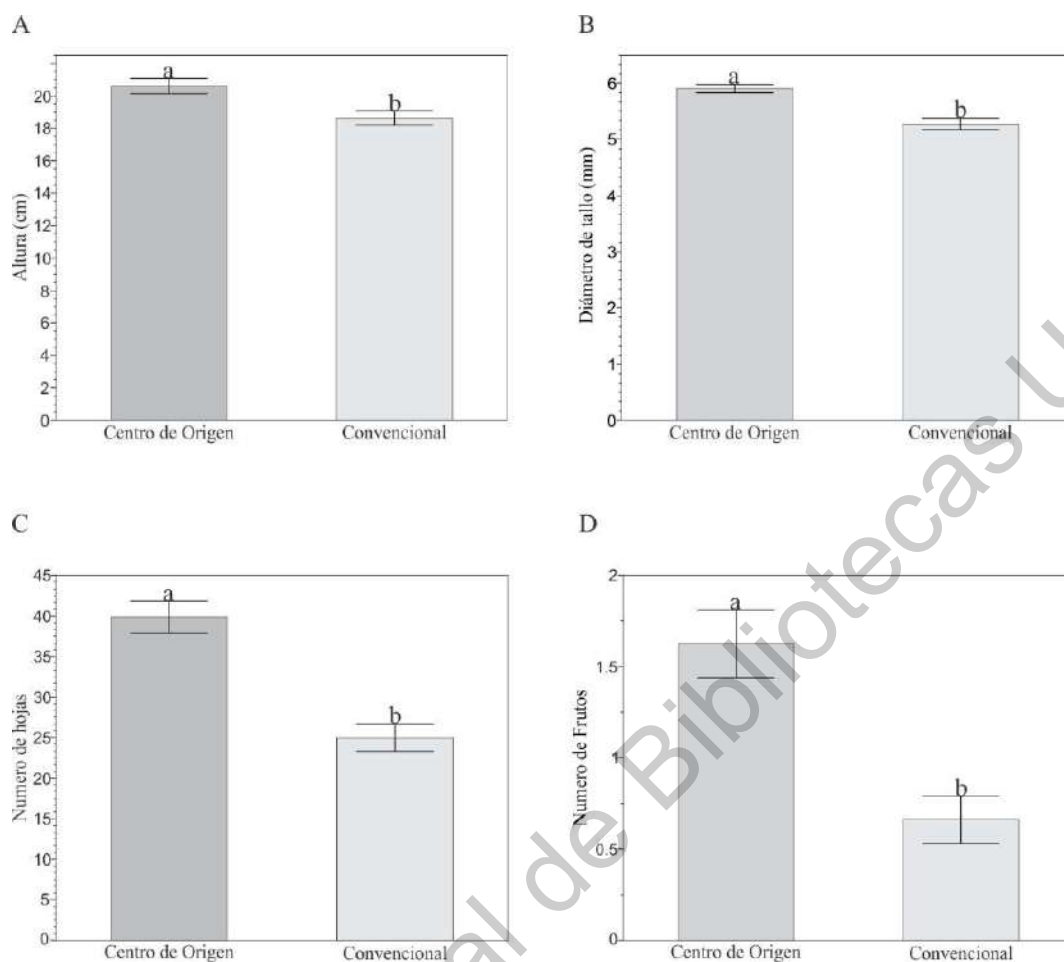
Para todos los experimentos, se realizó ANOVA unidireccional, y para comparaciones medias múltiples, se aplicó la prueba de Tukey con  $p = 0.05$ . El análisis estadístico y los gráficos se realizaron con el software JMP® 13.2.1.

Dirección General de Bibliotecas UAQ

## IV RESULTADOS Y DISCUSIONES

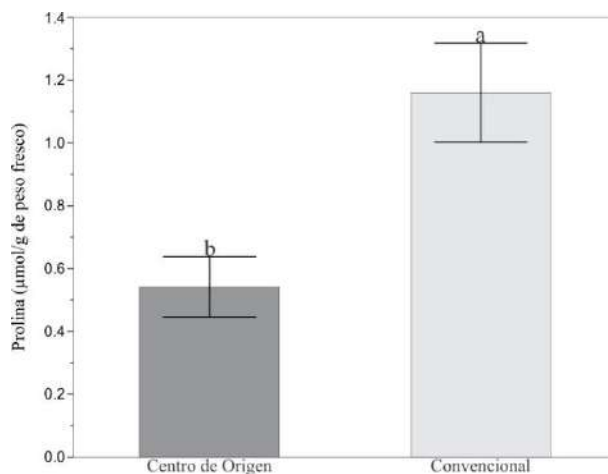
### 4.1 Mecanismos de respuesta de déficit hídrico en suelo del centro de origen y convencional sobre variables morfológicas y bioquímicas de *Capsicum annuum* L.

Para evaluar el impacto que el suelo del centro de origen y el suelo convencional (zona centro de México donde se cultiva chile), sobre el desempeño de *C. annuum*, se midieron algunas variables morfológicas de las plantas de chile cultivadas en estos suelos. La altura de la planta, el diámetro del tallo, el número de hojas y el número de frutos se midieron como indicadores del rendimiento de la planta. El análisis ANOVA y una comparación de medias mediante la prueba de Tukey para las variables morfológicas de chile en los dos tipos de suelo se muestran en la Figura 7. Hubo diferencias altamente significativas en el estimador estadístico promedio de altura (20.607 cm), diámetro del tallo (5.908 mm), número de hojas (39.859) y número de frutos (1.625) de plantas cultivadas en el suelo del centro de origen en comparación con el suelo convencional (18.624 cm, 5.279 mm y 25.0 hojas, respectivamente). Los valores de la comparación de medias mostraron que los estimadores de las plantas cultivadas en el suelo del centro de origen fueron estadísticamente más altos que los del suelo convencional.



**Figura 7.** Resultados de las variables morfológicas de las plantas de chile cultivadas en suelo del centro de origen y convencional. Comparación de medias  $\pm$  D.E. mediante la prueba de Tukey para las variables morfológicas que se evaluaron en suelo del centro de origen y convencional: altura (A), diámetro del tallo (B), número de hojas (C), número de frutos (D). En todos los casos,  $p = 0.05$ .

Para determinar si la prolina está involucrada en algún mecanismo de defensa de las plantas en los dos tipos de suelo, se midió su concentración en las hojas. El estimador estadístico promedio de la acumulación de prolina en las hojas de las plantas cultivadas en suelo convencional fue de  $1.082 \mu\text{mol} / \text{g}$  de materia fresca en comparación con  $0.573 \mu\text{mol} / \text{g}$  de materia fresca en suelo del centro de origen, mostrando una diferencia significativa (Figura 8). Los resultados sugieren que las plantas cultivadas en el suelo convencional activan la osmorregulación como mecanismo de defensa.



**Figura 8.** Acumulación de prolina en hojas de plantas de chile cultivadas en suelo del centro de origen y convencional. Comparación de medias y S.E. por la prueba de Tukey. En todos los casos,  $p = 0.05$ .

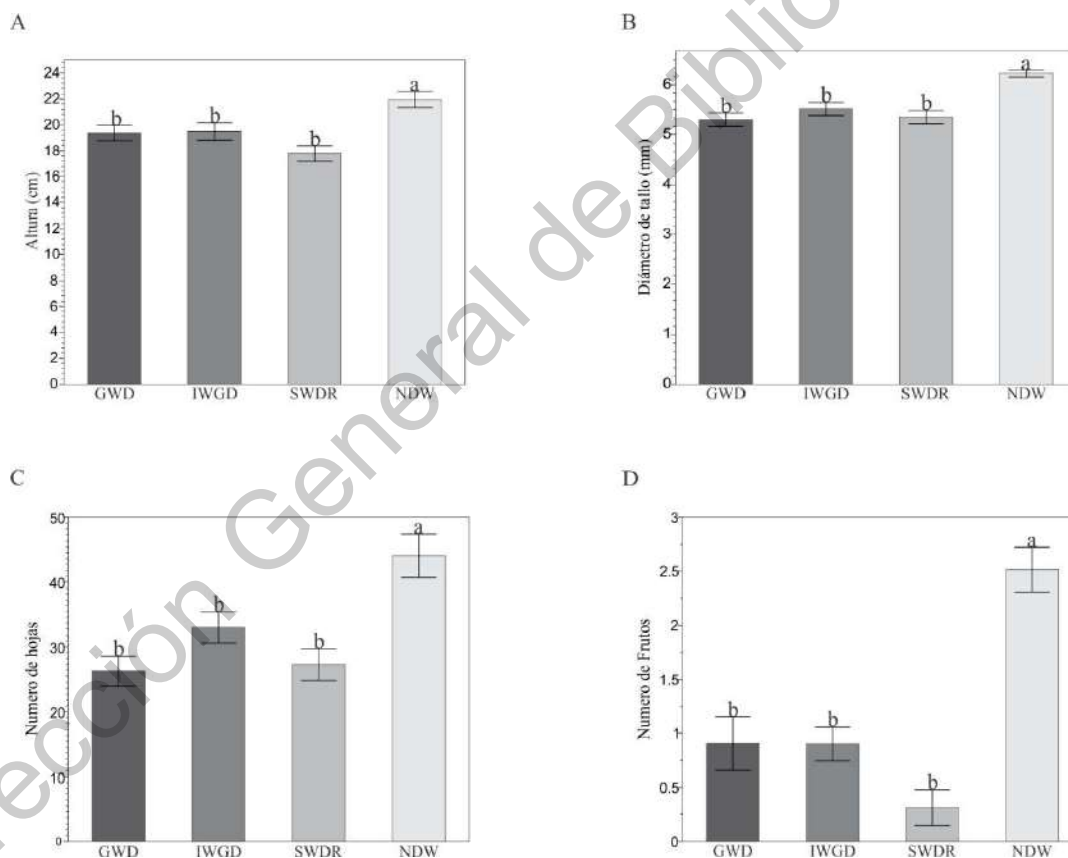
En el caso del análisis de expresión génica, no hubo diferencias significativas.

#### 4.2 Efectos del tipo de tratamiento de sequía en variables morfológicas y bioquímicas de *Capsicum annuum L.*

Se evaluaron los efectos de diferentes regímenes de aplicación de agua (tratamientos) en plantas cultivadas en suelo del centro de origen y arcillo (Figura 8). Los tratamientos de estrés hídrico evaluados se pueden ver en la Figura 5. Tenga en cuenta que las plantas expuestas al tratamiento GWD estaban más estresadas que las expuestas a otros tratamientos con un volumen de riego del 20% de la capacidad de campo mantenida durante siete días hasta el final del período evaluado (Figura 5 A). En el caso del tratamiento IWGD, el estrés se inició a la capacidad de campo seguido de siete días al 120%, riego al 80% y, finalmente, una disminución del 20% cada ocho días hasta que el tratamiento se concluyó al 40% (Figura 5 SI). El tratamiento SWDR comenzó con siete días con riego de capacidad de campo y luego siete días de riego al 20% de la capacidad de campo. Luego, cada semana, aumentó hasta alcanzar la capacidad de campo (Figura 5 C). Con respecto al tratamiento NWD, esto se

consideró como un control porque la capacidad de campo se mantuvo durante todo el experimento (Figura 5 D).

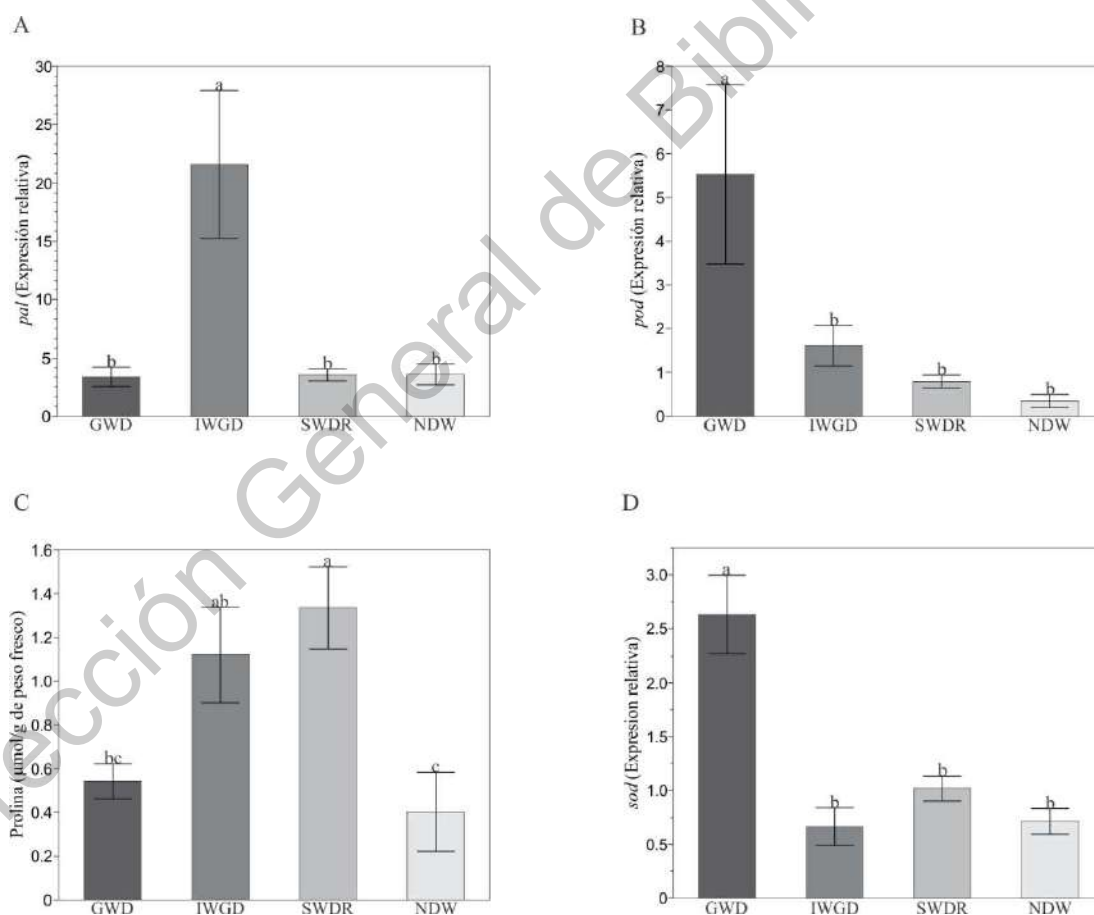
En la Figura 9, se puede ver en todos los casos que los valores estadísticos promedio del estimador para las variables morfológicas en el tratamiento NWD, correspondientes a la capacidad de campo, fueron los siguientes: altura de la planta, 21.954 cm (Figura 9 A); diámetro del tallo, 6.23 mm (Figura 9 B); número de hojas, 44.064 (Figura 9 C); y número de frutos, 2.516 (Figura 9 D). Estos valores fueron significativamente más altos que los medidos en el resto de los tratamientos. Por lo tanto, la influencia del estrés hídrico en el comportamiento de la planta se puede observar en las características morfológicas.



**Figura 9.** Resultados del rendimiento de la planta de chile cultivado bajo diferentes regímenes de estrés hídrico. Resultados de la comparación de medias  $\pm$  D.E. mediante la

prueba de Tukey de las variables morfológicas con la respuesta en ambos tipos de suelo agregado. En todos los casos,  $p = 0.05$ .

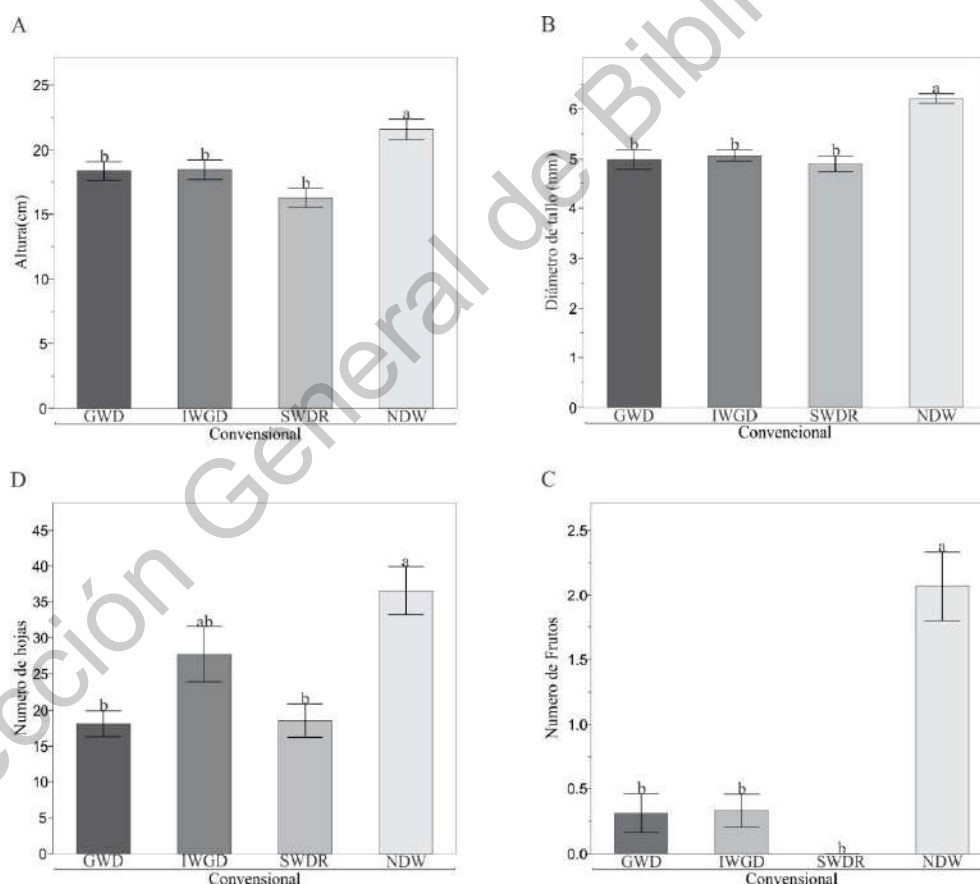
En la Figura 10, para el tratamiento de GWD, se puede ver que los niveles de expresión relativa de los genes *pod* (Figura 6 B) y *sod* (Figura 6 D) fueron significativamente más altos, 5.529-fold y 2.632-fold, respectivamente, en comparación con El resto de los tratamientos. En el tratamiento con IWGD, la expresión de *pal* (Figura 6 A) fue significativamente mayor (21.579 -fold) en comparación con el resto de los tratamientos. Por otro lado, en SWDR, la concentración de prolina (Figura 6 C) fue estadísticamente más alta (1.335a  $\mu\text{mol} / \text{g}$ ) que el resto de los otros tratamientos. El tratamiento NWD no se destacó en términos de ninguno de los mecanismos que se pueden inferir de la acumulación de prolina y la actividad enzimática.



**Figura 10.** Resultados de la acumulación de prolina y la expresión génica asociada con la respuesta al estrés en chile cultivado bajo diferentes regímenes de estrés hídrico. Resultados

de la comparación de medias  $\pm$  D.E. mediante la prueba de Tukey de las variables bioquímicas fenilalanina amonio-liasa (*pal*) (A), peroxidasa (*pod*) (B), prolina (C) y superóxido dismutasa (*sod*) (D) con la respuesta en ambos tipos de suelo agregado. En todos los casos,  $p \leq 0.05$ .

Para determinar el efecto que tiene el tipo de suelo en el rendimiento de las plantas bajo diferentes tipos de estrés hídrico (Figura 5), se midió su rendimiento en suelo convencional (Tabla 3,4). Los estimadores de la media de las variables morfológicas para el tratamiento NWD fueron significativamente más altos en la altura (21.573 cm, Figura 11 A), diámetro del tallo (6.212 mm, Figura 11 B), número de hojas (36.6, Figura 11 C), y cantidad de frutos (2, Figura 11 D).

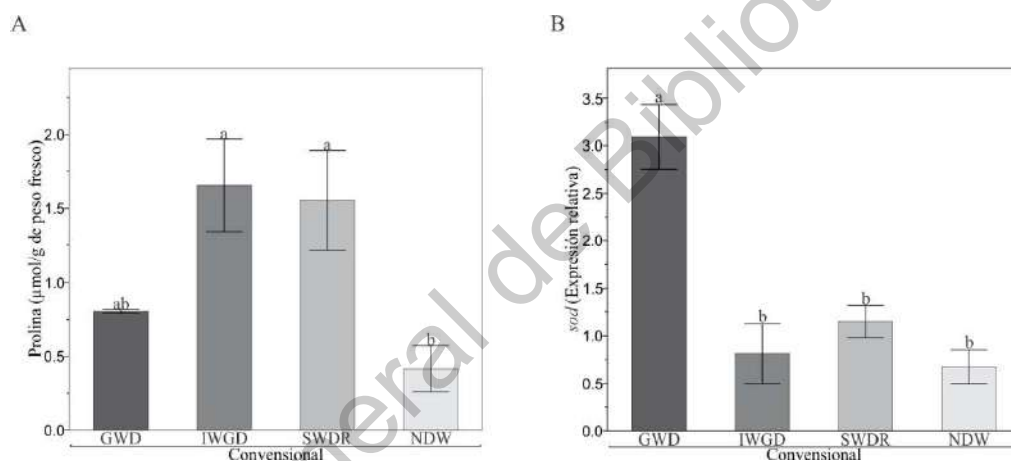


**Figura 11.** Rendimiento del chile cultivado en suelo convencional bajo los diferentes regímenes de riego. Resultados de la comparación de medias  $\pm$  D.E. mediante la prueba de



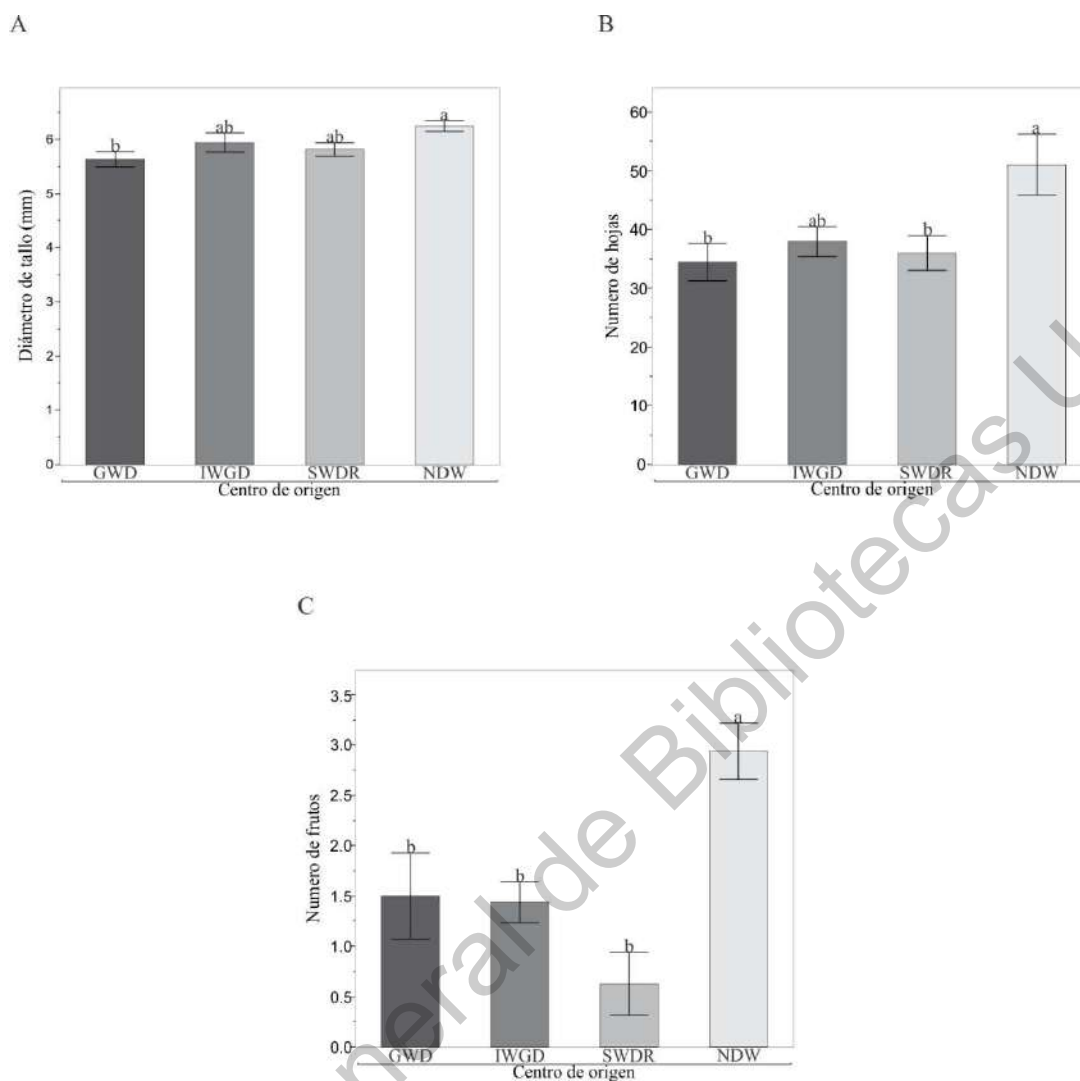
Tukey de las variables morfológicas: altura (A), diámetro del tallo (B), número de hojas (C) y número de frutos (D). En todos los casos,  $p = 0.05$ .

En el caso de las variables bioquímicas en los tratamientos IWGD y SWDR, se observó una acumulación altamente significativa de prolina (1.55 y 1.65  $\mu\text{mol} / \text{g}$ , respectivamente) (Figura 12 A). En términos de expresión génica, el tratamiento con GWD mostró la mayor expresión de *sod* 3.09-fold (Figura 12 B). Las variables de respuesta al estrés mostraron valores estadísticamente más bajos en las plantas tratadas con los diferentes tipos de estrés hídrico y suelo convencional; sin embargo, solo dos indicadores de defensa fueron estadísticamente significativos: prolina y expresión del gen *sod*.



**Figura 12.** Acumulación de prolina y expresión del gen del *sod* en plantas de chile cultivadas en suelo convencional bajo los diferentes regímenes de riego. Resultados de la comparación de medias  $\pm$  D.E. mediante la prueba de Tukey de las variables bioquímicas prolina (A) y superóxido dismutasa (*sod*) (B). En todos los casos,  $p = 0.05$ .

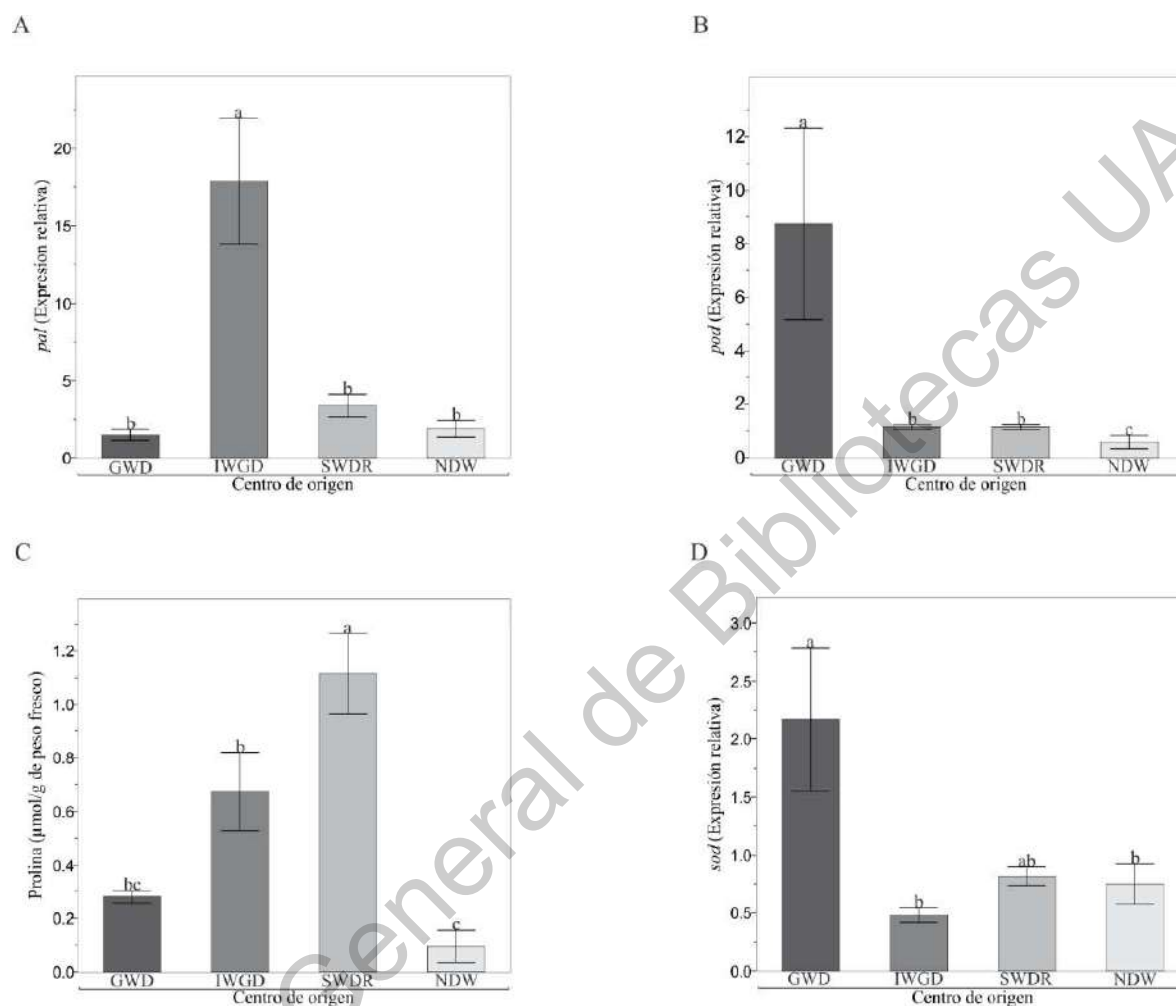
La influencia del suelo del centro de origen (Tabla 3,4) en las variables morfológicas (Figura 13) y bioquímicas (Figura 14) de las plantas de chile cultivadas se observa un comportamiento similar a los resultados mostrados en la Figura 9,10. Las variables morfológicas para el tratamiento NWD fueron significativamente más altas para el diámetro del tallo (6.246 mm, Figura 13 A), el número de hojas (51.06, Figura 13 B) y el número de frutos (2.93, Figura 13 C).



**Figura 13.** Rendimiento del Chile cultivado en suelo del centro de origen bajo los diferentes regímenes de riego. Resultados de la comparación de medias  $\pm$  D.E. mediante la prueba de Tukey de las variables morfológicas: diámetro del tallo (A), número de hojas (B) y número de frutos (C). En todos los casos,  $p = 0.05$ .

En el caso de las variables bioquímicas, el tratamiento IWGD mostró una expresión génica altamente significativa de *pal* (17.88-fold, Figura 14 A) en comparación con los otros tratamientos; El tratamiento con GWD mostró una expresión génica altamente significativa de *pod* (8,73-fold, Figura 13 B) y *sod* (2,17-fold, Figura 14B). El tratamiento SWDR mostró una acumulación altamente significativa de prolina (1.11  $\mu\text{mol} / \text{g}$ , Figura 14 C). Las variables de respuesta al estrés mostraron valores estadísticamente significativos en las

plantas tratadas con diferentes tipos de estrés hídrico en suelo del centro de origen, mostrando la activación de cuatro indicadores de respuesta al estrés.



**Figura 14.** Respuesta bioquímica de las plantas de chile cultivadas en el suelo del centro de origen bajo los diferentes regímenes de riego. Resultados de la comparación de medias  $\pm$  S.E. por Tukey de las variables bioquímicas fenilalanina amonio-liasa (*pal*) (A), peroxidasa (*pod*) (B), prolina (C) y superóxido dismutasa (*sod*) (D). En todos los casos  $p = 0.05$ .

### 4.3 Efectos de los tratamientos de déficit hídrico en las variables morfológicas y bioquímicas de *Capsicum annuum L* en suelos con y sin microbiota.

Se determinó si las plantas cultivadas bajo el mismo régimen de estrés hídrico, pero en diferentes tipos de suelo con y sin microbiota se comportan de manera diferente en términos de la respuesta al estrés utilizada para hacer frente a la sequía (Tabla 5, 6, 7 y 8). Se observó que en el tratamiento de NWD sin microbiota con el suelo del centro de origen y convencional, los valores de las variables morfológicas asociadas con el rendimiento de la planta fueron significativamente mayores, siendo en todos los casos el suelo del centro de origen superior. A su vez, en el tratamiento con SWDR, las plantas cultivadas en suelo del centro de origen y convencional sin microbiota mostraron una mayor concentración de prolina (1.16 y 2.25  $\mu\text{mol} / \text{g}$  de peso fresco respectivamente). El tratamiento IWGD en el suelo convencional con microbiota se observó diferencias significativas en la expresión del gen *pal* y *chs* (50.4-fold y 2.01-fold respectivamente), mientras que en el suelo del centro de origen solo se observó diferencias significativas en la expresión del gen *pal* (23.52-fold) y en el caso de *chs* se observó diferencias significativas en el tratamiento SWDR en suelo con microbiota (2.94-fold). En el tratamiento GWD se observaron diferencias significativas en la expresión del gen *pod* y *sod* en el suelo del centro de origen con microbiota (14.5-fold y 2.72-fold respectivamente) mientras que en el suelo convencional las diferencias significativas se observaron en el suelo sin microbiota (4.77-fold y 3.42-fold respectivamente). Por otro lado, las plantas expuestas al tratamiento NWD no mostraron diferencias significativas en la acumulación de prolina o la expresión génica.

**Tabla 5.** Variables morfológicas de las plantas de Chile cultivadas en suelo convencional con y sin microbiota bajo los diferentes regímenes de riego. Resultados de la comparación de medias, Mediante la prueba de Tukey. En todos los casos,  $p = 0.05$ . Letras diferentes representan diferencias estadísticamente significativas. Suelo convencional con microbiota y déficit gradual de agua (GWD-CON-CM), suelo convencional sin microbiota y déficit gradual de agua (GWD-CON-SM), suelo convencional con microbiota inicialmente anegado con déficit gradual de agua (IWGD-CON-CM), suelo convencional sin microbiota

inicialmente anegado con déficit gradual de agua (IWGD-CON-SM), suelo convencional con microbiota con déficit inicial de agua con recuperación gradual de agua (SWDR-CON-CM), suelo convencional sin microbiota con déficit inicial de agua con recuperación gradual de agua (SWDR-CON-SM), suelo convencional con microbiota sin déficit de agua (NWD-CON-CM), suelo convencional sin microbiota sin déficit de agua (NWD-CON-SM).

Tratamiento	Altura (cm)	Diámetro de tallo (mm)	Numero de hojas	Numero de frutos
GWD-CON-CM	19.0625 <sup>ab</sup>	5.11 <sup>c</sup>	16.37 <sup>bc</sup>	0.12 <sup>b</sup>
GWD-CON-SM	17.6625 <sup>b</sup>	4.85375 <sup>c</sup>	19.75 <sup>bc</sup>	0.5 <sup>b</sup>
IWGD-CON-CM	19.075 <sup>ab</sup>	5.14125 <sup>c</sup>	15.25 <sup>bc</sup>	0.37 <sup>b</sup>
IWGD-CON-SM	17.7429 <sup>b</sup>	4.98571 <sup>c</sup>	42 <sup>a</sup>	0.28 <sup>b</sup>
SWDR-CON-CM	15.7 <sup>b</sup>	4.47125 <sup>c</sup>	11.5 <sup>c</sup>	0 <sup>b</sup>
SWDR-CON-SM	16.8625 <sup>b</sup>	5.32625 <sup>bc</sup>	25.5 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>
NWD-CON-CM	19.6571 <sup>ab</sup>	6.19 <sup>ab</sup>	26.57 <sup>b</sup>	1.71 <sup>a</sup>
NWD-CON-SM	23.25 <sup>a</sup>	6.2325 <sup>a</sup>	45.37 <sup>a</sup>	2.37 <sup>a</sup>

**Tabla 6.** Variables bioquímicas de plantas de chile cultivadas en suelo convencional con y sin microbiota bajo los diferentes regímenes de riego. Resultados de la comparación de medias por la prueba de Tukey. En todos los casos,  $p = 0.05$ ; letras diferentes representan diferencias estadísticamente significativas. Suelo convencional con microbiota y déficit gradual de agua (GWD-CON-CM), suelo convencional sin microbiota y déficit gradual de agua (GWD-CON-SM), suelo convencional con microbiota inicialmente anegado con déficit gradual de agua (IWGD-CON-CM), suelo convencional sin microbiota inicialmente anegado con déficit gradual de agua (IWGD-CON-SM), suelo convencional con microbiota con déficit inicial de agua con recuperación gradual de agua (SWDR-CON-CM), suelo convencional sin microbiota con déficit inicial de agua con recuperación gradual de agua (SWDR-CON-SM), suelo convencional con microbiota sin déficit de agua (NWD-CON-CM), suelo convencional sin microbiota sin déficit de agua (NWD-CON-SM).

Tratamiento	Proline ( $\mu\text{mol/g}$ )	<i>pal</i>	<i>chs</i>	<i>pod</i>	<i>sod</i>
GWD-CON-CM	0.78 <sup>b</sup>	4.63 <sup>b</sup>	1.07 <sup>abc</sup>	0.68 <sup>cd</sup>	2.60 <sup>ab</sup>
GWD-CON-SM	0.82 <sup>b</sup>	6.77 <sup>b</sup>	1.27 <sup>ab</sup>	4.77 <sup>a</sup>	3.42 <sup>a</sup>
IWGD-CON-CM	1.19 <sup>ab</sup>	50.40 <sup>a</sup>	2.01 <sup>a</sup>	3.63 <sup>b</sup>	1.51 <sup>bc</sup>
IWGD-CON-SM	2.35 <sup>a</sup>	1.99 <sup>b</sup>	0.3 <sup>c</sup>	0.49 <sup>cd</sup>	0.11 <sup>d</sup>
SWDR-CON-CM	0.85 <sup>b</sup>	2.23 <sup>b</sup>	0.67 <sup>bc</sup>	1.04 <sup>c</sup>	0.83 <sup>cd</sup>
SWDR-CON-SM	2.25 <sup>a</sup>	5.14 <sup>b</sup>	0.93 <sup>bc</sup>	0.71 <sup>cd</sup>	1.46 <sup>bc</sup>
NWD-CON-CM	0.38 <sup>b</sup>	3.62 <sup>b</sup>	0.46 <sup>bc</sup>	0.05 <sup>d</sup>	0.25 <sup>d</sup>
NWD-CON-SM	1.03 <sup>ab</sup>	7.70 <sup>b</sup>	1.38 <sup>ab</sup>	0.14 <sup>d</sup>	0.95 <sup>cd</sup>

**Tabla 7.** Variables morfológicas de las plantas de chile cultivadas en suelo del centro de origen con y sin microbiota bajo los diferentes regímenes de riego. Resultados de la comparación de medias mediante la prueba de Tukey. En todos los casos,  $p = 0.05$ . Letras diferentes representan diferencias estadísticamente significativas. Suelo del centro de origen con microbiota y déficit gradual de agua (GWD-CO-CM), suelo del centro de origen sin microbiota y déficit gradual de agua (GWD-CO-SM), suelo del centro de origen con microbiota inicialmente anegado con déficit gradual de agua (IWGD-CO-CM), suelo del centro de origen sin microbiota inicialmente anegado con déficit gradual de agua (IWGD-CO-SM), suelo del centro de origen con microbiota con déficit inicial de agua con recuperación gradual de agua (SWDR-CO-CM), suelo del centro de origen sin microbiota con déficit inicial de agua con recuperación gradual de agua (SWDR-CO-SM), suelo del centro de origen con microbiota sin déficit de agua (NWD-CO-CM), suelo del centro de origen sin microbiota sin déficit de agua (NWD-CO-SM).

Tratamiento	Altura (cm)	Diámetro de tallo (mm)	Numero de hojas	Numero de frutos
GWD-CO-CM	19.18 <sup>ab</sup>	5.42 <sup>b</sup>	31 <sup>b</sup>	0.5 <sup>c</sup>
GWD-CO-SM	21.55 <sup>ab</sup>	5.83 <sup>ab</sup>	37.87 <sup>b</sup>	2.5 <sup>ab</sup>
IWGD-CO-CM	20.63 <sup>ab</sup>	5.70 <sup>ab</sup>	31.75 <sup>b</sup>	1.75 <sup>abc</sup>
IWGD-CO-SM	20.28 <sup>ab</sup>	6.17 <sup>ab</sup>	44.12 <sup>b</sup>	1.12 <sup>bc</sup>

SWDR-CO-CM	17.2 <sup>b</sup>	5.75 <sup>ab</sup>	30.5 <sup>b</sup>	0.37 <sup>c</sup>
SWDR-CO-SM	21.37 <sup>ab</sup>	5.87 <sup>ab</sup>	41.5 <sup>b</sup>	0.87 <sup>bc</sup>
NWD-CO-CM	21.25 <sup>ab</sup>	6.05 <sup>ab</sup>	38.37 <sup>b</sup>	2.37 <sup>ab</sup>
NWD-CO-SM	23.37 <sup>a</sup>	6.44 <sup>a</sup>	63.75 <sup>a</sup>	3.5 <sup>a</sup>

**Tabla 8.** Variables bioquímicas de las plantas de Chile cultivadas en suelo del centro de origen con y sin microbiota bajo los diferentes regímenes de riego. Resultados de la comparación de medias mediante la prueba de Tukey. En todos los casos,  $p = 0.05$ . Letras diferentes representan diferencias estadísticamente significativas. Suelo del centro de origen con microbiota y déficit gradual de agua (GWD-CO-CM), suelo del centro de origen sin microbiota y déficit gradual de agua (GWD-CO-SM), suelo del centro de origen con microbiota inicialmente anegado con déficit gradual de agua (IWGD-CO-CM), suelo del centro de origen sin microbiota inicialmente anegado con déficit gradual de agua (IWGD-CO-SM), suelo del centro de origen con microbiota con déficit inicial de agua con recuperación gradual de agua (SWDR-CO-CM), suelo del centro de origen sin microbiota con déficit inicial de agua con recuperación gradual de agua (SWDR-CO-SM), suelo del centro de origen con microbiota sin déficit de agua (NWD-CO-CM), suelo del centro de origen sin microbiota sin déficit de agua (NWD-CO-SM).

Tratamiento	Proline ( $\mu\text{mol/g}$ )	<i>Pal</i>	<i>chs</i>	<i>pod</i>	<i>sod</i>
GWD-CO-CM	0.30 <sup>bc</sup>	1.98 <sup>b</sup>	1.68 <sup>b</sup>	14.50 <sup>a</sup>	2.72 <sup>a</sup>
GWD-CO-SM	0.25 <sup>bc</sup>	0.77 <sup>b</sup>	1.06 <sup>bc</sup>	0.07 <sup>b</sup>	0.78 <sup>b</sup>
IWGD-CO-CM	0.58 <sup>abc</sup>	23.52 <sup>a</sup>	1.73 <sup>b</sup>	1.17 <sup>b</sup>	0.41 <sup>b</sup>
IWGD-CO-SM	0.75 <sup>abc</sup>	9.41 <sup>b</sup>	0.98 <sup>bc</sup>	1.13 <sup>b</sup>	0.58 <sup>b</sup>
SWDR-CO-CM	1.06 <sup>ab</sup>	4.53 <sup>b</sup>	2.94 <sup>a</sup>	1.00 <sup>b</sup>	0.92 <sup>b</sup>
SWDR-CO-SM	1.16 <sup>a</sup>	2.23 <sup>b</sup>	0.67 <sup>c</sup>	1.29 <sup>b</sup>	0.71 <sup>b</sup>
NWD-CO-CM	0.13 <sup>c</sup>	3.19 <sup>b</sup>	0.49 <sup>c</sup>	0.17 <sup>b</sup>	0.35 <sup>b</sup>
NWD-CO-SM	0.05 <sup>c</sup>	1.01 <sup>b</sup>	1.00 <sup>bc</sup>	1.00 <sup>b</sup>	1.01 <sup>b</sup>

Los resultados de las cuatro variables morfológicas (altura, diámetro del tallo, número de hojas y número de frutos) evaluados como indicadores para estimar la respuesta al estrés en el chile cultivado bajo diferentes regímenes de riego que representan diferentes condiciones de sequía mostraron valores significativamente más altos para las plantas cultivadas en el suelo del centro de origen en comparación con el suelo convencional. Más específicamente, nuestros resultados destacan la importancia del tipo de suelo como componente del medio ambiente en la agricultura. Con respecto a las cuatro variables, influyen en el potencial de supervivencia de las plantas de chile expuestas al déficit hídrico. Los resultados son consistentes con informes anteriores sobre el papel del suelo en la expresión fenotípica y, en este caso, en la respuesta de las plantas al estrés por sequía (De Beenhouwer *et al.*, 2015). La prolina es un osmolito que desempeña un papel en el mecanismo de osmoregulación durante la respuesta de las plantas al estrés por sequía (Ashraf y Foolad, 2007). Se ha informado que se produce acumulación de prolina en plantas de chile expuestas a una amplia gama de factores estresantes ambientales, incluida la sequía y la salinidad (Fiasconaro *et al.*, 2019). En este contexto, los resultados observados en la Figura 7 sugieren que la acumulación significativamente mayor de prolina en plantas cultivadas en suelo convencional se debió al mayor contenido de sodio del suelo (Tabla 4), lo que condujo al uso frecuente de la osmorregulación como mecanismo para lidiar con el estrés. Por lo tanto, se requirió un mayor esfuerzo de las plantas, dando a las plantas cultivadas en el suelo convencional una desventaja. De acuerdo con Kahlaoui *et al.* (Kahlaoui *et al.*, 2018), esto puede explicar la diferencia en el potencial de supervivencia observado. Como se señaló anteriormente, no se detectaron diferencias significativas con respecto a la actividad enzimática promedio de *pal*, *pod*, *chs* y *sod* cuando se compararon los datos obtenidos de plantas cultivadas en suelo del centro de origen y convencional. Esta situación sugiere que, en ambos tipos de suelos, las condiciones requeridas para el crecimiento de las plantas de chile están disponibles, lo que permite que los genes se expresen de manera similar.

Los resultados que se muestran en las Figuras 9 y 10 indican que, en cada tratamiento, que representa diferentes tipos de condiciones de sequía, los mecanismos utilizados por la planta para hacer frente al estrés difieren. Cabe señalar que, aunque los estimadores de las medias de las variables morfológicas (la altura de la planta, el diámetro del tallo, el número de hojas



y el número de frutos) fueron estadísticamente iguales en los tratamientos de GWD, IWGD y SWDR (Figura 9), los datos sugieren que cada uno utiliza un mecanismo diferente para hacer frente al estrés por sequía. Como se muestra en la Figura 10, en el tratamiento con GWD, hubo una actividad de expresión génica significativamente mayor en *pod* y el *sod*, lo que sugiere que las plantas probablemente usaron una mayor actividad antioxidante de tipo enzimático (Laxa *et al.*, 2019). Para hacer frente al estrés a largo plazo, las plantas han evolucionado para contrarrestar los efectos de las especies reactivas de oxígeno (ROS) con antioxidantes y enzimas antioxidantes que mantienen el equilibrio de ROS dentro de la célula (Das & Roychoudhury, 2014). Las vainas de enzimas antioxidantes y el *sod* juegan papeles clave en la desintoxicación de ROS celulares (S. Wang *et al.*, 2019). La evidencia reciente indica que las especies reactivas de oxígeno (ROS) y las especies reactivas de nitrógeno (RNS) se encuentran entre los principales transductores de señales intracelulares que sostienen la autofagia (Filomeni *et al.*, 2014). Nuestros resultados refuerzan la noción de autofagia como un mecanismo probable de la respuesta al estrés por sequía (Avin-Wittenberg, 2019). Las plantas cultivadas bajo estrés IWGD diferían de las cultivadas bajo los otros tratamientos porque se indujo una mayor expresión del gen *pal* (Figura 10 A). Por lo tanto, de manera análoga a los informes en tomate, nuestros resultados sugieren que las plantas de chile probablemente usan un mecanismo que involucra diferencialmente la síntesis de fenoles y capsaicinoides (Ximénez-Embún *et al.*, 2018). Es preciso señalar que en el tratamiento de IWGD, la disponibilidad de agua disminuyó con el tiempo, a diferencia del tratamiento SWDR, que comenzó con una baja cantidad de agua que posteriormente se incrementó. Sin embargo, las plantas cultivadas bajo estos dos tratamientos mostraron mayores cantidades de prolina, lo que indica su acumulación el día de la cosecha; en consecuencia, se obtuvo el mismo resultado a pesar de la fase de recuperación o deshidratación de la planta. Las plantas que crecieron en este régimen de sequía se destacan ligeramente por su acumulación de prolina (Figura 10 D). La prolina es una molécula que tiene varias funciones en la planta relacionadas con la tolerancia al estrés biótico y abiótico. En condiciones de sequía, la prolina ayuda a la planta a resistir la deshidratación a través de su función como osmolito (Fiasconaro *et al.*, 2019). Por lo tanto, nuestros datos sugieren que las plantas cultivadas bajo las condiciones del tratamiento SWDR tenían una mayor tendencia a utilizar la osmorregulación para tratar este tipo de estrés. El tratamiento NDW, que se

mantuvo a capacidad de campo (Figura 5 D), siempre fue significativamente diferente de los otros tratamientos en términos de las cuatro variables morfológicas que se evaluaron como indicadores para estimar la respuesta al estrés, y entre estos, los comportamientos fueron estadísticamente lo mismo (Figura 9). Sin embargo, los resultados observados en los tratamientos con diferentes tipos de estrés por sequía aplicados mostraron diferencias significativas en la concentración de prolina y la expresión génica de *pal*, *pod*, *chs* y *sod* (Figura 10). Esto sugiere el uso diferenciado de los mecanismos utilizados para hacer frente a la sequía de los dos tipos de suelo. Los resultados de los estimadores de las variables morfológicas en suelo convencional (Figura 11) y suelo del centro de origen (Figura 13) fueron similares a los mostrados en la Figura 9. Por otro lado, en suelo del centro de origen, se observaron diferencias significativas en la acumulación de prolina y la expresión génica de *pod*, *sod*, *pal* y *chs* en cada tipo de estrés hídrico (Figura 14). Por el contrario, en las plantas cultivadas en suelo convencional (Figura 12), solo hubo una diferencia significativa en el uso de mecanismos diferenciados en dos tratamientos: la expresión del gen *sod* y el uso de prolina para la activación de la osmorregulación.

Finalmente, en términos de los resultados de las variables bioquímicas de las plantas de Chile cultivadas en los diferentes tipos de suelo y tratamientos, en el tratamiento SWDR, se observó una mayor la concentración de prolina en los suelos sin microbiota, probablemente debido a que una de las funciones de la materia orgánica y la microbiota es reducir la porosidad de los suelos, como consecuencias de la actividad de los microorganismos, permitiendo un equilibrio iónico en el suelo, favoreciendo la interacción de la estructura física del suelo con las cargas iónicas del agua, teniendo como resultado mayor disponibilidad de agua para la planta (Navarro, 2003). Por otro lado, se observó de manera general en el suelo del centro de con microbiota una mayor expresión relativa de los genes. Los resultados sugieren que las características del suelo no solo influyen en el tipo de mecanismo que usa la planta, sino también en la intensidad con la que se usa.

## V. CONCLUSIÓN

Las plantas de Chile reaccionan de manera diferencial al estrés por sequía, dependiendo de la forma en que la planta experimente déficit hídrico. Esta respuesta diferencial involucra varios mecanismos entre los cuales se encuentran la regulación osmótica, el uso del metabolismo secundario y la regulación redox. Además, en nuestras condiciones experimentales, los resultados también sugieren que el mecanismo utilizado por el cultivar de Chile cuando se enfrenta a un fuerte estrés hídrico es la regulación oxidativa a través de la activación de la expresión del gen del *sod* y, por lo tanto, la enzima superóxido dismutasa (*sod*) juega un papel importante.

## LITERATURA CITADA.

Aliye, N., Fininsa, C., Hiskias, Y. (2008). Evaluation of rhizosphere bacterial antagonists for their potential to bioprotect potato (*Solanum tuberosum*) against bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum*). *Biological Control* 47:282-288.

Altieri, M. y C. Nicholls. (2009). Optimizando el manejo agroecológico de plagas a través de la salud del suelo. *Agroecología* 1: 30-36

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, 69. doi:10.3389/fpls.2017.00069

Ashraf, M., & Foolad, M. R. (2007). Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*, 59(2), 206–216. doi:10.1016/j.envexpbot.2005.12.006

Avin-Wittenberg, T. (2019). Autophagy and its role in plant abiotic stress management. *Plant, Cell & Environment*, 42(3), 1045–1053. doi:10.1111/pce.13404

Baldock, J. A., and Skjemstad, J. O. (1999). Soil organic carbon /Soil organic matter. In Peverill, KI, Sparrow, LA and Reuter, DJ (eds). *Soil Analysis - an interpretation manual*. CSIRO Publishing Collingwood Australia.

Bates, L. S., Waldren, R. P., & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39(1), 205–207. doi:10.1007/BF00018060

Benhamou, N., Gagné, S., Quéré, D. L., Dehbi, L. (2000). Bacterially mediated induced resistance in cucumber: beneficial effect of the endophytic bacterium *Serratia plymuthica* on the protection against infection by *Pythium ultimum*. *Biochem. Cell Biol* 90: 45-56.

Brader, G., Compant, S., Mitter, B., Trognitz, F., Sessitsch, A., (2014). Metabolic potential of endophytic bacteria. *Curr. Opin. Biotechnol. Sci.* 27, 30–37.

Bronick, C. J., & Lal, R. (2005). Soil structure and management: A review. *Geoderma*, 124(1–2), 3–22. doi:10.1016/j.geoderma.2004.03.005

Calabrese, J., Iavicoli, I., Calabrese, V. (2012). Hormesis: why it is important to biogerontologists. *Biogerontology*. 13(3): 215-235

Calabrese, E. J. (2013). Hormetic mechanisms. *Critical Reviews in Toxicology*, 43(7), 580–606. doi:10.3109/10408444.2013.808172

Calabrese, J. (2014). Hormesis: from mainstream to therapy. *Journal of Cell Communication and Signaling*. 8(4):289-291

Calabrese, J., Iavicoli, I., Calabrese, V. (2012). Hormesis: why it is important to biogerontologists. *Biogerontology*. 13(3): 215-235

Cedergreen, N., Ritz, C., Streibig, J.C. (2005). Improved empirical models describing hormesis. *Environ Toxicol Chem.* 24(12):3166-72.

Das, K., & Roychoudhury, A. (2014). Reactive oxygen species ( ROS ) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. 2(December), 1–13. doi:10.3389/fenvs.2014.00053

De Beenhouwer, M., Van Geel, M., Ceulemans, T., Muleta, D., Lievens, B., & Honnay, O. (2015). Changing soil characteristics alter the arbuscular mycorrhizal fungi communities of Arabica coffee (*Coffea arabica*) in Ethiopia across a management intensity gradient. *Soil Biology and Biochemistry*, 91, 133–139. doi:10.1016/j.soilbio.2015.08.037

FAOSTAT, (2013). Producción. Organización de las Naciones Unidad para la Alimentación y la Agricultura División de Estadísticas. Base de datos. Recuperado de <http://faostat3.fao.org>.

Fiasconaro, M. L., Lovato, M. E., Antolín, M. C., Clementi, L. A., Torres, N., Gervasio, S., & Martín, C. A. (2019). Role of proline accumulation on fruit quality of pepper (*Capsicum annuum* L.) grown with a K-rich compost under drought conditions. *Scientia Horticulturae*, 249, 280–288. doi:10.1016/j.scienta.2019.02.002

Filomeni, G., De Zio, D., & Cecconi, F. (2014). Oxidative stress and autophagy: the clash between damage and metabolic needs. *Cell Death And Differentiation*, 22, 377. doi:10.1038/cdd.2014.150

Gokmen, E., & Ceyhan, E. (2015). Effects of drought stress on growth parameters, enzyme activities and proline content in chickpea genotypes. *Bangladesh Journal of Botany*, 44, 177–183. doi:10.3329/bjb.v44i2.38505

González-Zamora, A., Sierra-Campos, E., Luna-Ortega, J., Pérez-Morales, R., Ortiz, J., & García-Hernández, J. (2013). Characterization of Different Capsicum Varieties by Evaluation of Their Capsaicinoids Content by High Performance Liquid Chromatography, Determination of Pungency and Effect of High Temperature. *Molecules*, 18(11), 13471–13486. doi:10.3390/molecules181113471

Heiser, C. B., & Pickersgill, B. (1969). Names for the Cultivated Capsicum Species ( Solanaceae). *International Association for Plant Taxonomy*, 18(3), 277–283. <http://www.jstor.org/stable/1218828>

Hooper, P.L., P. L. Hooper, Tytell M., Vigh, L. (2010). Xenohormesis: health benefits from an on of plant stress response evolución. *Cell Stress Chaperones* 15: 761–770.

Hossain, M. A., Wani, S. H., Bhattacharjee, S., Burritt, D. J., & Tran, L. S. P. (2016). Drought stress tolerance in plants, vol 1: Physiology and biochemistry. In M. A. Hossain, S. H. Wani, S. Bhattacharjee, D. J. Burritt, & L.-S. P. Tran (Eds.), *Drought Stress Tolerance in Plants, Vol 1: Physiology and Biochemistry* (Vol. 1, pp. 1–526). doi:10.1007/978-3-319-28899-4

Hu, B., Yao, H., Peng, X., Wang, R., Li, F., Wang, Z., Zhao, M., & Jin, L. (2019). Overexpression of Chalcone Synthase Improves Flavonoid Accumulation and Drought Tolerance in Tobacco. doi:10.20944/preprints201906.0103.v1

Ibarra-Torres, P., Valadez-Moctezumab, E., Pérez-Grajalesb, M., Rodríguez-Camposc, J., Jaramillo-Flores, M.E.(2015) Inter- and intraspecific differentiation of *Capsicum annuum* and *Capsicum pubescens* using ISSR and SSR markers. *Scientia Horticulturae*. 181(2) 137–146

Ighodaro, O. M., & Akinloye, O. A. (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*, 54(4), 287–293. doi:10.1016/j.ajme.2017.09.001

*Inmunología Vegetal y la Producción de Alimentos. CIENCIA@UAQ*. 5(1):1-7.

Jaleel, C., Manivannan, P., Wahid, A., Farooq, M., Al-Juburi, H., Somasundaram, R., & Panneerselvam, R. (2009). Drought Stress in Plants: A Review on Morphological Characteristics and Pigments Composition. *International Journal of Agriculture and Biology*, 11.

Jia, L., He, X., Chen, W., Liu, Z., Huang, Y., Yu, S. (2013). Hormesis phenomena under Cd stress in a hyperaccumulator--*Lonicera japonica* Thunb. *Ecotoxicology*. 22(3):476-85. doi: 10.1007/s10646-013-1041-5.

Julca-Otiniano, A., L. Meneses-Florián, R. Blas-Sevillano, S. Bello-Amez. (2006). La materia orgánica, importancia y experiencia de su uso en la agricultura. *Idesia* 24(1): 49-61.

Kahlaoui, B., Hachicha, M., Misle, E., Fidalgo, F., & Teixeira, J. (2018). Physiological and biochemical responses to the exogenous application of proline of tomato plants irrigated with saline water. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 17(1), 17–23. doi:10.1016/j.jssas.2015.12.002

Kaul, S., Gupta, S., Sharma, S., & Dhar, M. K. (2017). The Fungal Endobiome of Medicinal Plants: A Prospective Source of Bioactive Metabolites BT- Medicinal Plants and Fungi: Recent Advances in Research and Development (D. C. Agrawal, H.-S. Tsay, L.-F. Shyur, Y.-C. Wu, & S.-Y. Wang (eds.); pp. 167–228). Springer Singapore. doi:10.1007/978-981-10-5978-0\_7

Kay, B.D., (1998) Soil structure and organic carbon: a review., *Soil processes and the carbon cycle*. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 169– 197.

Kraft, K. H., Brown, C. H., Nabhan, G. P., Luedeling, E., Luna Ruiz, J. d. J., Coppens d’Eeckenbrugge, G., Hijmans, R. J., & Gepts, P. (2014). Multiple lines of evidence for the origin of domesticated chili pepper, *Capsicum annuum*, in Mexico. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(17), 6165–6170. doi:10.1073/pnas.1308933111

Kumar, P.P. (2013). Plant hormones and their intricate signaling networks: Unraveling the nexus. *Plant Cell Reports*. 32:731-732. doi: 10.1007/s00299-013-1435-0

Lal, R., (1991). Soil structure and sustainability. *J. Sustain. Agric.* 1,67– 92.

Laxa, M., Liebthal, M., Telman, W., Chibani, K., & Dietz, K.-J. (2019). The Role of the Plant Antioxidant System in Drought Tolerance. *Antioxidants*, 8(4). doi:10.3390/antiox8040094

Leyva, R., Constán-Aguilar, C., Blasco Leon, M. B., Sánchez-Rodríguez, E., Romero, L., Soriano, M., & M Ruíz, J. (2014). Effects of climatic control on tomato yield and nutritional quality in Mediterranean greenhouse. In *Journal of the science of food and agriculture* (Vol. 94). doi:10.1002/jsfa.6191

Livak, K. J., & Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta CT}$  Method. *Methods*, 25(4), 402–408. doi:10.1006/METH.2001.1262

Long, A., Benz, B., Donahue, D, Jull. A., Toolin, L. (1989). First direct AMS dates on early maize from Tehuacán, Mexico. *Radiocarbon* 31:1035–1040.

López-Diazguerrero, N. E., González-Puertos, V.Y., Hernández-Bautista, R.J., Alarcón-Aguilar, A., Luna- López, A., Königsberg-Fainstein, M. (2013). [Hormesis: What doesn't kill you makes you stronger]. *Gac Med Mex.* 149(4):438-47.

Mateos, R.M., Jiménez, A., Román, P., Romojaro, F., Bacarizo, S., Leterrier, M., Gómez, M., Sevilla, F., del Río, L.A. Corpas, F.J. Palma, J.M. (2013). Antioxidant Systems from Pepper (*Capsicum annum* L.): Involvement in the Response to Temperature Changes in Ripe Fruits. *Int J Mol Sci.* 14(5): 9556–9580. doi: 10.3390/ijms14059556

Moreno, E., Mora, R., Sánchez, F., García-Pérez, V. (2011). Phenology and yield of bell pepper (*Capsicum annum* L.) hybrids grown hydroponically. *Rev. Chapingo Ser.Hortic.* 17.

Murphy, B. W. (2014). Soil organic matter and soil function – review of the literature and underlying data. *GRDC.* May, 155.

Muthamilarasan, M., Prasad, M. (2013). Plant innate immunity: An updated insight into defense mechanism. *Journal of Biosciences.* 38(2):433-449

Navarro, B. S., Navarro, G. S., (2003). *Química agrícola.* Aedos 2:482

Nunn, A.V., Guy, G.W., Bell, J.D. (2014). The intelligence paradox; will ET get the metabolic syndrome? Lessons from and for Earth. *Nutrition & Metabolism.* 11:34 doi:10.1186/1743-7075-11-34

Orobiyi, A., Dansi, A., Assogba, P., Loko, L. Y., Dansi, M., Vodouhè, R., Akouègninou, A., Sanni, A. (2013). Chili (*Capsicum annum* L.) in southern Benin: production constraints, varietal diversity, preference criteria and participatory evaluation. *International Research Journal of Agricultural Science and Soil Science.* 3(4):107-120

Philippot, L., Raaijmakers, J. M., Lemanceau, P., & van der Putten, W.H., 2013. Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere. *Nature Reviews Microbiology.* 11, 789–799.

Produccion de plántula de Chile en invernadero. INIFAP.

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 annum* L.). *Plant Physiology and Biochemistry,* 134, 94–102. doi:10.1016/J.PLAPHY.2018.06.025

Saini, R. K. and Harish Prashanth, K. V. and Nandini, P. Shetty and Giridhar, P. 2014 Elicitors, SA and MJ enhance carotenoids and tocopherol biosynthesis and expression of antioxidant related genes in *Moringa oleifera* Lam. leaves. *Acta Physiologiae Plantarum,* 36 (10). pp. 2695-2704.

Scott, B. R. (2014). Radiation-hormesis phenotypes, the related mechanisms and implications for disease prevention and therapy. *Journal of Cell Communication and Signaling.* 8(4):341-352

Silva, A., Ponce de León, J., García, F., & Durán, A. (1988). Aspectos metodológicos en la determinación de la capacidad de retener agua de los suelos del Uruguay. *Universidad de La República, Facultad de Agronomía, Boletín de investigación,* 20.

Six, J., Bossuyt, H., Degryze, S., Deneff, K., (2004). A history of research on the link between (micro) aggregates, soil biota, and soil organic matter dynamics. *Soil & Tillage Research* 79 (2004) 7–31.

Swain, S., Singh, N., Kumar, A. (2015). Identification of plant defence regulators through transcriptional profiling of *Arabidopsis thaliana* cdd1 mutant. *Journal of Biosciences*. 40(1):1-10.

Szumiel, I. (2012). Radiation hormesis: Autophagy and other cellular mechanisms. *Int J Radiat Biol*. 8(9):619-28.

Thakur, M., Singh, B. (2013). Role of Elicitors in Inducing Resistance in Plants against Pathogen Infection: A Review. *ISRN Biochemistry*. Article ID 762412

Torres-Pacheco, I. Guevara-González, R. G., Mejía-Teniente, L., Chapa Oliver, A.M. 2012. Relación de la Inmunología Vegetal y la Producción de Alimentos. *CIENCIA@UAQ*. 5(1):1-7.

Vargas-Hernandez, M., Macias-Bobadilla, I., Guevara-Gonzalez, R. G., Romero-Gomez, S. de J., Rico-Garcia, E., Ocampo-Velazquez, R. V., Alvarez-Arquieta, L. de L., & Torres-Pacheco, I. (2017). Plant Hormesis Management with Biostimulants of Biotic Origin in Agriculture. *Frontiers in Plant Science*, 8 (October), 1–11. doi:10.3389/fpls.2017.01762

Vavilov N. I., 1927. Origin and geography of cultivated plants. Cambridge university Press. 1992

Vidhyasekaran, P. 2015. Jasmonate Signaling System in Plant Innate Immunity. *Plant Hormone Signaling Systems in Plant Innate Immunity*. Signaling and Communication in Plants. 2:123-194

Villalon, M. H., Medina, M. T., Ramirez, M. M. (2013). Factores de calidad de la semilla de chile silvestre (*Capsicum annum* L. var. *glabriusculum*). *Rev. mex. de cienc. Forestales*. (4) 17: 182-187

Wang, S., Zhang, Q., Zheng, S., Chen, M., Zhao, F., & Xu, S. (2019). Fish and Shellfish Immunology Atrazine exposure triggers common carp neutrophil apoptosis via the CYP450s / ROS pathway. *Fish and Shellfish Immunology*, 84(July 2018), 551–557. doi:10.1016/j.fsi.2018.10.029

Wang, Y.; DAI, C. C. (2011). Endophytes: A potential resource for biosynthesis, biotransformation, and biodegradation. *Annals of Microbiology*. 61(2): 207–215.

Wang, Z., Yu, Q., Shen, W., El Mohtar, C. A., Zhao, X., & Gmitter, F. G. (2018). Functional study of CHS gene family members in citrus revealed a novel CHS gene affecting the production of flavonoids. *BMC Plant Biology*, 18(1), 189. doi:10.1186/s12870-018-1418-y

WHO, (2010). Datos y estadísticas. Organización mundial de la salud. Base de datos. Recuperado de <http://www.who.int>.

Ximénez-Embún, M. G., González-Guzmán, M., Arbona, V., Gómez-Cadenas, A., Ortego, F., & Castañera, P. (2018). Plant-Mediated Effects of Water Deficit on the Performance of *Tetranychus evansi* on Tomato Drought-Adapted Accessions. In *Frontiers in Plant Science* (Vol. 9, p. 1490). doi:10.3389/fpls.2018.01490

Zandalinas, S. I., Mittler, R., Balfagón, D., Arbona, V., & Gómez-Cadenas, A. (2018). Plant adaptations to the combination of drought and high temperatures. *Physiologia Plantarum*, 162(1), 2–12. doi:10.1111/ppl.12540